

**ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΩΝ ΘΕΩΡΙΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΣΤΟ
ΠΛΑΙΣΙΟ ΤΗΣ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗΣ ΛΟΓΙΚΗΣ: αναπαράσταση της
ενδοκυτταρικής διαδικασίας της απόπτωσης με χρήση
Απαγωγικού Λογικού Μοντέλου**

Σωτηράκης Λαζάρου Γεωργίου

Η Διατριβή αυτή

Υποβλήθηκε προς Μερική Εκπλήρωση των

Απαιτήσεων για την Απόκτηση

Τίτλου Σπουδών Master

σε Προηγμένες Τεχνολογίες Πληροφορικής

στο

Πανεπιστήμιο Κύπρου

Συστήνεται προς Αποδοχή

Από το Τμήμα Πληροφορικής

Μάιος, 2012

ΠΕΡΙΛΗΨΗ:

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής διατριβής είναι μια προσέγγιση του θέματος της μοντελοποίησης των βιολογικών συστημάτων για λογαριασμό της έρευνας σχετικά με την καρκινογένεση. Αφού διατυπωθούν οι βασικές αρχές της Βιολογίας, της επιστήμης της Λογικής και του Απαγωγικού Λογικού Προγραμματισμού, θα παρουσιαστεί μια πρόταση για αναπαράσταση του ενδοκυτταρικού περιβάλλοντος και των σηματοδοτικών μονοπατιών, με στόχο τη διερεύνηση της αποτυχίας για μεταγωγή του σήματος της απόπτωσης και πραγμάτωση του προγραμματισμένου θανάτου των κυττάρων. Η μοντελοποίηση, που δομείται πάνω στις αρχές του απαγωγικού λογισμού, θα επικεντρωθεί στην επεξήγηση πειραμάτων *in-vitro* σχετικά με την επίδραση συγκεκριμένων φαρμακευτικών ουσιών και στην διεξαγωγή πειραμάτων *in silico*, με στόχο την εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με την διαδικασία της απόπτωσης, αλλά και την επίδραση συγκεκριμένων φαρμακευτικών ουσιών. Επιπρόσθετα, παρουσιάζεται αναλυτικά σύστημα που δομήθηκε με βάση τις αρχές της απαγωγικής λογικής μοντελοποίησης, ενώ δίνονται συγκεκριμένα παραδείγματα για κάθε περίπτωση που αναλύεται στο παρόν πύνημα.

ΣΕΛΙΔΑ ΕΓΚΡΙΣΗΣ

Διατριβή Master

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΩΝ ΘΕΩΡΙΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΣΤΟ ΠΛΑΙΣΙΟ

**ΤΗΣ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗΣ ΛΟΓΙΚΗΣ: αναπαράσταση της
ενδοκυτταρικής διαδικασίας της απόπτωσης με χρήση**

Απαγωγικού Λογικού

Παρουσιάστηκε από
Σωτηράκη Λαζάρου Γεωργίου

Ερευνητικός Σύμβουλος:

Καθ. Αντώνης Κάκας

Μέλος Επιτροπής:

Καθ. Γιάννης Δημόπουλος

Μέλος Επιτροπής:

Καθ. Κωνσταντίνος Παττίχης

Πανεπιστήμιο Κύπρου

Μάιος, 2012

Ευχαριστίες

Αισθάνομαι την ανάγκη να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στον επιβλέποντα καθηγητή της παρούσας διπλωματικής διατριβής, κ. Αντώνη Κάκα, για την πολύτιμη βοήθεια και υποστήριξη που μου πρόσφερε κατά τη διάρκεια εκπόνησης της εργασίας.

Επιπρόσθετα, θέλω να ευχαριστήσω την υποψήφια διδάκτωρ του τμήματος βιολογίας του πανεπιστημίου Κύπρου, κα. Χριστιάνα Νεοφύτου, καθώς και τον καθηγητή κ. Αντρέα Κωνσταντίνου, που στήριξαν το βιολογικό κομμάτι της παρούσας έρευνας τροφοδοτώντας συνεχώς με δεδομένα και δίνοντας συμβουλές με στόχο την αποτελεσματικότερη λειτουργία του συστήματος που προτείνεται εδώ.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω να απευθύνω στον συνάδελφο και συμφοιτητή, κ. Δώρο Γεωργίου, για την πολύτιμη βοήθειά που πρόσφερε στο σχεδιαστικό κομμάτι του συστήματος που αποτελεί αντικείμενο της παρούσας εργασίας.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Κεφάλαιο 1:Εισαγωγή.....	1
Κεφάλαιο 2: Συστημική Βιολογία.....	5
Κεφάλαιο 3:Απαγωγικός Λογικός Προγραμματισμός	11
Λογικός Προγραμματισμός:	12
Κεφάλαιο 4: “ApoCelSys”	21
4.1 Περιγραφή των απαιτήσεων του συστήματος	21
4.2 Το μοντέλο:.....	32
Κεφάλαιο 5: Το σύστημα “ApoCelSys”	44
Κεφάλαιο 6: Διάφορες χρήσεις του συστήματος.....	57
Κεφάλαιο 7: Επαλήθευση της εγκυρότητας του “ApoCelSys”	60
Σύνοψη:.....	67
Μελλοντικές επεκτάσεις:.....	70
Βιβλιογραφία:.....	74
Παράρτημα Α: Πλήρες Απαγωγικό Λογικό Μοντέλο	76
Παράρτημα Β: Γνωσιακή Βάση	78
Παράρτημα Γ: Εικόνες γραφικής αναπαράστασης ενδοκυτταρικών μονοπατιών και μεταγωγής σήματος για απόπτωση.....	82
Παράρτημα Δ: Πίνακες ενδεικτικών εκτελέσεων	84

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΜΕ ΠΙΝΑΚΕΣ

Πίνακας 1 - Συνθήκες Απαγωγικού Λογισμού.....	14
Πίνακας 2- Πίνακας αληθείας πύλης NOT	18
Πίνακας 3 - Σημασιολογία επιλεγμένης κατάστασης γονιδίου	47
Πίνακας 4 - Επίδραση επιλεγμένης κατάστασης γονιδίου	47
Πίνακας 5 - Οπτική παρουσίαση επιλεγμένης κατάστασης γονιδίου	48
Πίνακας 6 - Οπτική παρουσίαση επίδρασης του φαρμάκου σε συγκεκριμένα γονίδια	49
Πίνακας 7 - Οπτική παρουσίαση επίδρασης φάρμακου και διάδοσης του σήματος ενεργοποίησης	53
Πίνακας 8- Δεδομένα Πραγματικού Πειράματος.....	64
Πίνακας 9 – Πειραματικά δεδομένα mcf-7.....	84
Πίνακας 10 - Πειραματικά δεδομένα MDA-MB-231	84
Πίνακας 11 - Ενδεικτικοί χρόνοι εκτελέσεων πειράματος mcf-7	84
Πίνακας 12 - Ενδεικτικοί χρόνοι εκτελέσεων πειράματος MDA-MB-231	84
Πίνακας 13 - Ενδεικτικοί χρόνοι εκτελέσεων με χρήση depth search limit στο mcf-7.....	85
Πίνακας 14 - Ενδεικτικοί χρόνοι εκτελέσεων με χρήση depth search limit στο MDA-MB-231	85

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΜΕ ΕΙΚΟΝΕΣ

Εικόνα 1 - Εξαγωγή Συμπερασμάτων	16
Εικόνα 2 – Διαδικασία επιβεβαίωσης της εγκυρότητας των επεξηγήσεων	17
Εικόνα 3 - Αφηρημένο ενδοκυτταρικό περιβάλλον	29
Εικόνα 4 – Αναπαράσταση μονοπατιών, και μενού εντολών.....	45
Εικόνα 5 - Παράθυρο επιλογών κατάστασης γονιδίου..	46
Εικόνα 6 - Σύντομο μενού επιλογών.....	48
Εικόνα 7 - Πλήκτρα περιήγησης των επεξηγήσεων και διάδοσης της επίδρασης του φάρμακου	50
Εικόνα 8 - Παράθυρο παρουσίασης, φιλτραρίσματος και επιλογής των επεξηγήσεων	50
Εικόνα 9 - Διάδοση σήματος ενεργοποίησης / απενεργοποίησης	53
Εικόνα 10 - Παράθυρο Κατανομής Συχνότητας	54
Εικόνα 11 - Τεχνητό Γνωστικό Υπόβαθρο για σκοπούς επαλήθευσης.....	61
Εικόνα 12 - Κατανομή Συχνότητας – αντιστρόφως ανάλογη του μήκους της επεξήγησης.....	64
Εικόνα 13- Κατανομή Συχνότητας – αντιστρόφως ανάλογη του μήκους της επεξήγησης - Νέα δεδομένα.....	66
Εικόνα 14 - Μιτοχονδριακός έλεγχος απόπτωσης.	82
Εικόνα 15 - Αποπτωτικά μονοπάτια.	83

Κεφάλαιο 1:Εισαγωγή

Η Βιοπληροφορική, ως κλάδος που συγκεράζει τις Βιολογικές Επιστήμες με τον τομέα της Πληροφορικής, αποτελεί πεδίο που εξελίσσεται ραγδαία, ιδιαίτερα τις τελευταίες δεκαετίες. Ο συσχετισμός των μεθόδων της σύγχρονης πληροφορικής με τις πρακτικές της βιολογίας, της ιατρικής, της φαρμακολογίας παρήγαγε θεαματικά αποτελέσματα, όχι μόνο στον τομέα της περιγραφής και ανάλυσης των βιολογικών δεδομένων και λειτουργιών, αλλά και σε αυτόν της ανοσολογίας, διάγνωσης και θεραπείας.

Αντικείμενο της παρούσης διπλωματικής διατριβής αποτελεί η τομή των νέων τεχνολογιών και μεθόδων του κλάδου της Πληροφορικής με τις σύγχρονες πειραματικές πρακτικές στο πεδίο της Βιολογίας των Συστημάτων. Η Βιολογία συνιστά ευρύ πεδίο που εύκολα συσχετίζεται με τις έννοιες του Μαθηματικού κλάδου, αλλά και τους όρους της Επιστήμης των Υπολογιστών, καθώς δομείται πάνω στις αρχές ενός κώδικα που εύκολα μεταφράζεται σε μαθηματική και κυρίως λογική γλώσσα.

Η συστημική προσέγγιση του βιολογικού κλάδου, που αναπτύχθηκε ιδιαίτερα τον περασμένο αιώνα, αλλά και τα τελευταία χρόνια, ασχολήθηκε με την πολυσύνθετη λειτουργία πολύπλοκων βιολογικών συστημάτων στο σύνολό τους, ξεπερνώντας τις συμβατικές απομονωτικές μεθόδους προσέγγισης του οργανισμού. Αναπτύχθηκαν, με τη βοήθεια της πληροφορικής, αναπαραστατικά μοντέλα των βιολογικών συστημάτων που επιτρέπουν, όχι μόνο την περιγραφή των βιολογικών λειτουργιών, αλλά και τη διεξαγωγή προσομοιωτικών πειραμάτων (*in silico*) τα οποία συνιστούν σημαντικό εργαλείο για την ανάλυση και θεραπεία των βιολογικών ανωμαλιών.

Το παρόν πόνημα εστιάζει στις μεταλλαγές σε σηματοδοτικά μονοπάτια της απόπτωσης κατά την καρκινογένεση, καθώς και τη φαρμακευτική επίδραση με στόχο

την επιτέλεση της απόπτωση και κατάργηση του ανώμαλου κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Πιο συγκεκριμένα, περιγράφεται η μοντελοποίηση του κυτταρικού περιβάλλοντος, που στοχεύει στην ταυτόχρονη προσομοιωτική και πειραματική - εργαστηριακή προσέγγιση της καρκινογένεσης.

Η θεωρία του μοντέλου στηρίχθηκε στα εργαλεία του λογικού προγραμματισμού, που χρησιμοποιεί τα δεδομένα ενός προβλήματος, σε συσχετισμό με τις εξαγόμενες από αυτά υποθέσεις και τον στόχο του προβλήματος για να το επιλύσει, και πιο συγκεκριμένα τα εργαλεία της απαγωγικής λογικής μεθόδου (*abductive logic programming*), η οποία επιτρέπει τη ελλιπή περιγραφή των κανόνων που διέπουν το μοντέλο και την εξαγωγή υποθέσεων με βάση τη διαρκώς ανανεωμένη γνώση σχετικά με το πρόβλημα.

Η απαγωγική διαδικασία, ως διεργασία που πραγματοποιεί ο ανθρώπινος εγκέφαλος κατά την προσπάθεια αφομοίωσης της γνώσης, ενδιαφέρει ιδιαίτερα τις σύγχρονες πρακτικές της επιστήμης της πληροφορικής, καθώς συνιστά χρήσιμο εργαλείο για την προσπάθεια δημιουργίας τεχνολογικών και ψηφιακών συστημάτων, τα οποία θα λειτουργούν όπως ο ανθρώπινος εγκέφαλος, αφομοιώνοντας νέα δεδομένα σε λογική μορφή και αποθηκεύοντας τα με τέτοιο τρόπο ώστε να εξαγονται συμπεράσματα με βάση αυτά. Η δυνατότητα για εξαγωγή πιθανών σεναρίων σχετικά με συγκεκριμένα προβλήματα, αλλά και η διευκρίνιση της καλύτερης επεξήγησης όσον αφορά αυτά καθιστούν τον υπολογιστή σημαντικό σύμμαχο για τη σύγχρονη έρευνα, σε όλα τα πεδία.

Η προσέγγιση μας δεν κινήθηκε αποκλειστικά σε θεωρητικό επίπεδο, καθώς η παρούσα διατριβή υποστηρίζεται από τη δημιουργία, σε επίπεδο πρακτικό, του συστήματος "ApoCe/Sys", που συνιστά αναπαράσταση των σηματοδοτικών μονοπατιών εντός του κυττάρου, στις οποίες πραγματοποιείται η μεταγωγή σήματος για πραγμάτωση του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Το σύστημα, που

δομήθηκε για τις ανάγκες¹ συγκεκριμένης ερευνητικής προσπάθειας² σχετικά με την αποτυχία πραγμάτωσης της απόπτωσης ως αιτία της καρκινογένεσης, επιτρέπει την εισαγωγή των δεδομένων σχετικά με το ενδοκυτταρικό και γονιδιακό περιβάλλον και τη συνακόλουθη διεξαγωγή πειραμάτων *in silico*, με στόχο την διατύπωση όλων των υποθέσεων που αφορούν το εκάστοτε πείραμα. Με αυτό τον τρόπο, δύναται ο χρήστης του συστήματος να εξετάσει, σε μορφή *in silico*, όλες τις πιθανές αιτίες για την αποτυχία της απόπτωσης, καθώς και την επίδραση συγκεκριμένων χημικών ή συνθετικών ουσιών με στόχο την πραγματοποίηση του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου.

Στα επόμενα κεφάλαια θα παρουσιαστούν οι αρχές που αποτέλεσαν τη βάση για τη δόμηση του συστήματος “ApoCelSys”. Η διάταξη του υλικού ορίστηκε ως εξής:

Στην πρώτη θεματική ενότητα αναλύονται οι βασικές έννοιες της συστημικής προσέγγισης στο πεδίο των βιολογικών επιστημών, καθώς και η χρησιμότητα των νέων τεχνολογιών και των όρων της σύγχρονης πληροφορικής. Η δεύτερη ενότητα επικεντρώνεται γύρω από το θέμα της Λογικής ως επιστήμης η οποία αποτελεί καίριο εργαλείο για την ανάπτυξη του κλάδου της Τεχνητής Νοημοσύνης, ενώ δίνεται ιδιαίτερη σημασία στην ανάλυση των βασικότερων αρχών του Απαγωγικού Λογικού Προγραμματισμού. Η τρίτη θεματική ενότητα παρουσιάζει τα συγκεκριμένα βιολογικά ενδοκυτταρικά δεδομένα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν ως βάση για την ανάπτυξη των κατηγορημάτων του συστήματος “ApoCelSys”, ενώ παράλληλα αναλύθηκαν οι όροι για την μοντελοποίηση της γνώσης σχετικά με την απόπτωση του κυττάρου και τη δράση των χημικών ουσιών. Στην τέταρτη ενότητα της εργασίας περιγράφεται αναλυτικά το σύστημα “ApoCelSys”, καθώς και οι βασικότερες λειτουργίες του, ενώ στην πέμπτη ενότητα εξηγούνται οι χρήσεις του συστήματος. Στην έκτη ενότητα

¹ Παρόλο που το σύστημα δημιουργήθηκε για να εξυπηρετήσει συγκεκριμένες ερευνητικές ανάγκες, εντούτοις πρέπει να διευκρινιστεί ότι δεν περιορίζεται σε αυτές.

² Το σύστημα που προτείνεται στην παρούσα διατριβή αναπτύχθηκε με αφορμή τη διερεύνηση του αποπτωτικού μηχανισμού που επάγεται από το TP53 σε καρκινικά κύτταρα μαστού, που διεξάγεται από την υποψήφια διδάκτωρ κα. Χριστιάννα Νεοφύτου σε συνεργασία με την κα. Κωνσταντίνα Κωνσταντίνου και τον κ. Ανδρέα Ι. Κωνσταντίνου.

πραγματοποιείται σύγκριση της τακτικής που ακολουθήθηκε για τη δόμηση του συστήματος, με άλλες υπάρχουσες τακτικές, ενώ στην επόμενη ενότητα παρουσιάζονται οι έλεγχοι που αποδεικνύουν τόσο την εγκυρότητα της λειτουργίας του συστήματος, όσο και την ορθότητα των αποτελεσμάτων που αυτό παρέχει στον χρήστη. Στην τελευταία ενότητα της εργασίας αναλύονται τα συμπεράσματα, αλλά και οι μελλοντικές βλέψεις που μπορεί κάποιος να έχει σχετικά με το σύστημα “ApoCeISys”.

Κεφάλαιο 2: Συστημική Βιολογία: νέες προσεγγίσεις στο ανθρώπινο αίνιγμα.

«The *whole* is something over and above its parts and not just the sum of them all»
Aristotle.

Η σημαντικότερη, ίσως, εξέλιξη στο πεδίο διερεύνησης των βιολογικών δομών της ζωής είναι η στροφή, εκ μέρους της έρευνας, στο βιολογικό σύστημα ιδωμένο ως σύνολο με απώτερο σκοπό την κατανόηση της σχέσης των επιμέρους μερών του συστήματος στην επιτέλεση μιας συγκεκριμένης λειτουργίας³. Η συστημική προσέγγιση απομακρύνεται από την απομονωτική εξέταση των επιμέρους δομών της ανθρώπινης φυσιολογίας και, αντ' αυτού, επικεντρώνεται σε μια μάλλον ολιστική διερεύνηση της εξέλιξης του βιολογικού συστήματος. Στα πλαίσια της συστημικής λογικής, μελετώνται ολόκληρα βιολογικά συστήματα, αναλύονται οι σχέσεις και οι αλληλεπιδράσεις των στοιχείων που συναπαρτίζουν το σύστημα, ενώ παράλληλα διατυπώνονται μαθηματικά μοντέλα για την περιγραφή των δομών και των ιδιοτήτων των συστημάτων.

Η νέα αυτή προσέγγιση της βιολογικής έρευνας καθιερώθηκε παράλληλα με την επινόηση νέων μεθόδων ανάλυσης στις αρχές του 20^{ου} αιώνα. Η μέθοδος της συστημικής ανάλυσης πάνω στην οποία δομήθηκε ο καινούριος βιολογικός κλάδος προέκυψε μέσα από τη φυσική εξέλιξη από τη μελέτη συστημάτων χαμηλής πολυπλοκότητας στη μελέτη πολυπλοκότερων συστημάτων. Η εξέλιξη για την οποία

³Ο μοριακός βιολόγος, διευθυντής των δημοσιεύσεων του EMBO και εκδότης του περιοδικού Molecular Systems Biology, Les Grivell, σε άρθρο σχετικό προς τη σπουδαιότητα του νέου πεδίου της Συστημικής Βιολογίας, αναφέρει τα ακόλουθα σε μια προσπάθεια διευκρίνησης του τρόπου λειτουργίας της συστημικής μεθόδου, χρησιμοποιώντας απλούς όρους της καθημερινότητας: «Ας δούμε μία αναλογία με το ράδιο: ένα ράδιο μετατρέπει τα ηλεκτρικά κύματα σε ηχητικά, αλλά δε γνωρίζουμε πώς ακριβώς γίνεται αυτό. Ενώ η μοριακή βιολογία θα ανέλυε το ράδιο για να αναγνωρίσει τα μέρη του, η συστημική βιολογία θα προσπαθήσει να κατανοήσει πώς δουλεύουν μεταξύ τους τα μέρη για να επιτελέσουν την συγκεκριμένη λειτουργία» [2]

γίνεται λόγος περιγράφεται με απλούς όρους από τους Νικήτα Ασημακόπουλο, Ιωάννη Θεοχαρόπουλο και Νικόλαο Δημητρίου στα πλαίσια του Εθνικού Συνεδρίου Ελληνικής Εταιρίας Συστημικών Μελετών που πραγματοποιήθηκε το 2005:

«Σε συστήματα χαμηλής πολυπλοκότητας είναι σχετικά εύκολο στον παρατηρητή να συνδέει αιτιατά τα γεγονότα δημιουργώντας αλυσίδες αιτίων – αποτελεσμάτων ώστε να μπορεί να ερμηνεύει το παρελθόν και σε σημαντικό βαθμό να προβλέψει το μέλλον. Η αιτιοκρατία είναι ο βασικός τρόπος λογισμού όταν η πολυπλοκότητα είναι χαμηλή. Περιβάλλοντα χαμηλής πολυπλοκότητας είναι συνήθως απλά μηχανιστικά (Νευτώνεια) φυσικά περιβάλλοντα ή περιβάλλοντα με λίγους “παίχτες” και σαφείς κανόνες. Όταν όμως η πολυπλοκότητα αυξάνει, είναι δύσκολο στον μελετητή να κινείται με βασικό λογισμό μόνο την αιτιοκρατία. Στα περιβάλλοντα υψηλής πολυπλοκότητας όπως είναι για παράδειγμα οι ζωντανοί οργανισμοί, τα κοινωνικά ή οικονομικά συστήματα οι αιτίες διαπλέκονται, δημιουργούν κυκλικούς ενισχυτικούς μηχανισμούς, παρουσιάζουν υστερήσεις και δεν μπορούν να συσχετιστούν εύκολα με ευδιάκριτα αποτελέσματα. Επόμενο είναι να απαιτείται μια διαφορετική, ολιστική προσέγγιση η οποία θα είναι σε θέση να αντιμετωπίζει την πολυπλοκότητα και να επιτρέπει στον παρατηρητή να λογίζεται ικανοποιητικά. Η προσέγγιση αυτή είναι η συστημική ανάλυση» [9].

Η κατανόηση πολυπλοκότερων συστημάτων που καθιέρωσε την εξελικτική πορεία ποικίλων ανθρωπιστικών επιστημών συμπεριλαμβανομένης και της βιολογικής έρευνας ανιχνεύεται ήδη από νωρίς στην αριστοτελική οπτική του Όλου. Παρόλο που η αριστοτελική ολιστική θεώρηση παραμελήθηκε με την εμφάνιση της πειραματικής φυσικής και βιολογίας, εντούτοις έθεσε μια πρώτη βάση για τη μελέτη ολόκληρων συστημάτων. Η προγενέστερη αναγωγιστική οπτική ανιχνεύεται στον 17^ο αιώνα με

τους Rene Descartes⁴ και Isaac Newton⁵. Πιο συγκεκριμένα, η ντεσκαρτιανή άποψη που θέλει την ανάλυση να στρέφεται στα επιμέρους στοιχεία του συνόλου και η νευτώνεια αναγωγιστική προσέγγιση του ζητήματος της βαρύτητας επικεντρώθηκαν στη θέση που θέλει τη μέθοδο της αναγωγής να οδηγεί την έρευνα στην αλήθεια.

Η υπολογιστική προσέγγιση της βιολογίας, λοιπόν, απορρέει ως συνέπεια των επιρροών της αναγωγιστικής οπτικής του 17^{ου} αιώνα. Πράγματι, η τάση για απομόνωση και εξέταση της συμπεριφοράς και των ιδιοτήτων των επιμέρους στοιχείων των κυττάρων κρίνεται απαραίτητη για τη συνολική εξέλιξη της έρευνας στο πεδίο των βιολογικών επιστημών. Η μετάβαση από τις συμβατικές μηχανιστικές και αναγωγιστικές προσεγγίσεις σε μια μάλλον ολιστική θεώρηση του ζητήματος πραγματοποιείται στο πρώτο μισό του 20^{ου} αιώνα όταν γίνεται φανερό ότι η συμπεριφορά ενός κυττάρου ή μιας ομάδας κυττάρων συνιστά αποτέλεσμα μιας πολύπλοκης διαδικασίας αλληλεπιδράσεων «οι οποίες δημιουργούν ανοδικά υψηλότερα επίπεδα οργάνωσης και συγχρόνως καθοδικά μεμονωμένα μόρια ή τα σύμπλοκά τους σε αυτά τα κύτταρα» [3]. Οι συμβατικές προσεγγίσεις αντικαθίστανται από ολιστικές θεωρήσεις κυττάρων ή συμπλεγμάτων από κύτταρα, ιστών και οργανισμών με στόχο την κατανόηση των ιδιοτήτων και της λειτουργίας των συστημάτων, μέσα από τη διερεύνηση των επιμέρους συστατικών που τα συναπαρτίζουν.

Η ραγδαία εξέλιξη στον τομέα των βιολογικών σπουδών παρήγαγε πληθώρα βιολογικών δεδομένων – πειραματικών, θεωρητικών ή άλλων- τα οποία αφορούν το ενδογονιδιακό, ενδοκυτταρικό ή και ολόκληρο το σύστημα του ανθρώπινου οργανισμού. «Στη σημερινή εποχή ο τεράστιος όγκος πληροφορίας που προκύπτει από την έρευνα στις Βιολογικές επιστήμες κυρίως δε για μόρια όπως το DNA και οι

⁴«He [Descartes] formulated the notion that complex situations can be analyzed by reducing them to manageable pieces, examining each in turn, and reassembling the whole from the behavior of the pieces. Descartes' reductionism as it is now known was formulated when biology as a subject was nonexistent». [8]

⁵«Newton's success in mathematically describing planetary movements and characterizing gravity were powerful influences toward the easy belief that reductionism would provide all the necessary answers». (ό. π)

αλληλουχίες των πρωτεϊνών, απαιτεί πλέον εξαιρετικά εξελιγμένα υπολογιστικά συστήματα προκειμένου τα δεδομένα να καταχωρηθούν και να ταξινομηθούν ώστε να καταστούν “human friendly” και να αξιοποιηθούν από τους ερευνητές» [11]. Η σύγχρονη έρευνα συγκεράζει τους όρους των βιολογικών επιστημών με την επιστήμη της πληροφορικής αναζητώντας στα πεδία αυτά τις κατάλληλες εργαλειακές υποδομές για την εξέλιξη της βιολογικής έρευνας. Οι έννοιες της *Βιοπληροφορικής* και *Υπολογιστικής Βιολογίας* που εισάγονται, στα 1978, από τους Paulier Hogeweg και Ben Hesper αποδεικνύουν ότι οι διαδικασίες της πληροφορικής μπορούν να συνεργαστούν με τη σύγχρονη πειραματική βιολογία δίνοντας μια καλύτερη κατανόηση της βιολογικής λειτουργίας και εξέλιξης. Η έννοια μιας βιοπληροφορικής επιστήμης δομημένης πάνω στους όρους της συστημικής μεθόδου, αν και αναπτύσσεται ιδιαίτερα τα τελευταία χρόνια, εντούτοις πρωτοεμφανίζεται, ήδη, στα μέσα του 20^{ου} αιώνα με την ιδέα της «μαθηματικής βιολογίας».

Η Βιοπληροφορική συνιστά κλάδο που συγκεράζει τις βιολογικές επιστήμες με τη σύγχρονη πληροφορική συμβάλλοντας στην από κοινού ανάπτυξη των δύο πεδίων. Όταν η επεξεργασία του πλήθους των νέων πληροφοριών στον τομέα της βιολογικής έρευνας κατέστη δυσχερής εξαιτίας της ραγδαίας εξέλιξης της βιολογικής επιστήμης, ο άνθρωπος στράφηκε στον υπολογιστή αναζητώντας ένα συνεργάτη στην έρευνα. Ο καινούριος επιστημονικός κλάδος της βιοπληροφορικής επικεντρώθηκε, αρχικά, στη συγκέντρωση των βιολογικών δεδομένων ώστε οι βιολόγοι και ερευνητές να έχουν εύκολη και αξιόπιστη πρόσβαση σε αυτά. Επιπρόσθετα, ασχολήθηκε με την ανάπτυξη υπολογιστικών εργαλείων και αλγορίθμων που παίζουν σημαντικό ρόλο στην επεξεργασία και ανάλυση των βιολογικών δεδομένων .

Καθώς η βιολογία δομείται πάνω στις αρχές μιας κωδικοποίησης (γενετικός κώδικας), έχει τη δυνατότητα να τέμνει τις μαθηματικές επιστήμες και την πληροφορική, με στόχο όχι μόνο την αποθήκευση των βιολογικών πληροφοριών, αλλά και την προσομοίωση αυτών για λογαριασμό της πειραματικής έρευνας. Ο γενετικός κώδικας

μεταφράστηκε, με τη βοήθεια των εργαλείων της βιοπληροφορικής, σε όρους ενός ψηφιακού κώδικα που επέτρεπε την αποθήκευση των βιολογικών δεδομένων στις βάσεις πληροφοριών του υπολογιστή.

Ιδωμένος ως σύστημα, ο ανθρώπινος οργανισμός μπορεί πλέον να προσομοιωθεί για λογαριασμό της έρευνας μέσω των επιστημονικών εργαλείων και της γνώσης της βιοπληροφορικής. Η μαθηματική επιστήμη, η συνακόλουθη πληροφορική επιστήμη αλλά και η συστημική μέθοδος συνεργάζονται με αποτέλεσμα την απεικόνιση των γονιδίων, των κυττάρων, των πρωτεϊνών και την αναμεταξύ τους σχέση και αλληλεπίδραση. Δίνεται πια η δυνατότητα για ακριβή μοντελοποίηση των συστατικών αυτών του ανθρώπινου οργανισμού και του τρόπου με τον οποίο αλληλοσυνδέονται και αλληλοεπηρεάζονται.

Το αυξημένο ενδιαφέρον για την υπολογιστική προσέγγιση (*computational approach*) των βιολογικών συστημάτων έθεσε τις βάσεις για τη δημιουργία μοντέλων αναπαράστασης των μοριακών διεργασιών των διαφόρων επιπέδων λεπτομέρειας των γονιδιακών ή των κυτταρικών δομών. Η ιδέα της προσομοίωσης των βιολογικών μοντέλων σε όρους υπολογιστή οδήγησε σταδιακά στην αυτοματοποίηση της βιολογικής πειραματικής έρευνας. Η προσομοίωση των σύνθετων βιολογικών συστημάτων που αντικατέστησε τη χειρόγραφη ή και νοητή αναπαράσταση έδωσε τη δυνατότητα στους ερευνητές να ανατρέχουν σε οποιοδήποτε σύνολο ή υποσύνολο του ανθρώπινου οργανισμού, έχοντας τη δυνατότητα περιγράψουν και να αναλύσουν τη δομή, τη σύνθεση και τη λειτουργία του.

Η αρχική αναπαράσταση των συστημάτων του οργανισμού σε γλώσσα υπολογιστών σύντομα εξελίχθηκε σε δυνατότητα ανακατασκευής των βιολογικών φαινομένων και διεξαγωγής εικονικών πειραμάτων (*in silico*). Ο συσχετισμός της αναπαράστασης των βιολογικών μοντέλων με την πειραματική εργαστηριακή πρακτική έθεσε νέες

βάσεις στον τομέα της φαρμακευτικής έρευνας⁶. Η δυνατότητα θεώρησης των λειτουργιών του βιολογικού συστήματος και εξέτασης των ανωμαλιών που παρουσιάζονται, αλλά και η ταχύτητα που προσφέρει στην έρευνα η μέθοδος των *in silico* πειραμάτων στρέφει τις πειραματικές διαδικασίες και τη σύγχρονη εργαστηριακή πρακτική προς τη διερεύνηση των ασθενειών και την επιτυχή αναζήτηση θεραπειών.

⁶«Good computational modeling and simulation should be integrated tightly with experimental laboratory work. Experimental work provides information for creating the model, the computational work then generates hypothesis or points out where data is missing and provide information for which experiments should be done next, whose results are then used to improves the model. The research area concerned with modeling biological networks is vast. There is a number of different modeling and simulation types used in systems biology, depending on the type of system, the data available and results desired. These span from detailed continuous models such as ordinary differential equations to simple discrete models such as boolean networks. Mirroring the large number of options for modeling, a large number of software packages has been developed specifically for modeling and simulating biological networks and systems». [4]

Κεφάλαιο 3: Απαγωγικός Λογικός Προγραμματισμός: η λογική σκέψη στην υπηρεσία του υπολογιστή

Ο Σωκράτης είναι θνητός;

«Η λογική παρέχει έναν τρόπο για την αποσαφήνιση και την τυποποίηση της διαδικασίας της ανθρώπινης σκέψης. Μας επιτρέπει να συλλογιζόμαστε (reason) για την ορθότητα των προγραμμάτων, να αναπαριστούμε προβλήματα αλλά και να τα επιλύουμε. Η ανάγκη για μια τέτοια φορμαλιστική αναπαράσταση της ανθρώπινης σκέψης προήλθε από το γεγονός ότι η φυσική γλώσσα, αν και ιδανική, είναι επίσης και βερμπαλιστική (verbose), ασαφής (vague), πολυσήμαντη (ambiguous), περιέχει συμφραζόμενα (context sensitive), κ.α» [10].

Η Λογική, ως επιστήμη, ερευνήθηκε για πρώτη φορά το 350 π. Χ. περίπου από τον Αριστοτέλη, ο οποίος επιχείρησε να δείξει τους τρόπους σύμφωνα με τους οποίους μπορεί η σκέψη να φτάσει σε ορθά συμπεράσματα από ορισμένες υποθέσεις. Το γνωστό σε όλους αριστοτελικό επιχείρημα «Όλοι οι άνθρωποι είναι θνητοί/ Ο Σωκράτης είναι άνθρωπος/ Άρα ο Σωκράτης είναι θνητός», η αρχή της ταυτότητας ($A=A$), η αρχή της μη αντίφασης και η αρχή της απόκλεισης του τρίτου (μια ιδιότητα είτε υπάρχει είτε δεν υπάρχει σε ένα αντικείμενο) έθεσαν τις βάσεις για την ορθολογική εξέταση της σκέψης και της νόησης.

Μετά την αριστοτελική προσέγγιση των εννοιών της Λογικής, η λογική επιστήμη προσεγγίζεται εκ νέου από τη σύγχρονη φιλοσοφική σκέψη και συνδέεται με τις έννοιες των μαθηματικών⁷. Για δεκαετίες οι θεωρίες της λογικής συσχετίζονται με τη μαθηματική επιστήμη, η οποία παρέχει τα εργαλεία για τη μεθοδική εξέταση της

⁷«Η μεγάλη ανάπτυξη της Λογικής έχει επιτελεσθεί τα τελευταία εκατό χρόνια. Αναπτύχθηκε στα τέλη του περασμένου αιώνα από τους Frege, Peano, Russell και Whitehead που επεξεργάστηκαν τις σχέσεις μαθηματικών – λογικής. Στις πρώτες δεκαετίες του αιώνα μας ανοίχτηκαν οι δρόμοι για τη σύγχρονη (μαθηματική) λογική με τη δουλειά των Hilbert, Godel, Tarski, Skolem κ. α.» [12]

ορθότητας των έγκυρων ισχυρισμών. «Η Λογική στη σημερινή εποχή χρησιμοποιεί μαθηματικές μεθόδους, σημειώνει σχετικά ο Μιχάλης Μυτιληναίος σε σύγγραμμα του αναφορικά με το ζήτημα. Στη δεκαετία του '30 η Λογική συνδέθηκε με την έννοια της *υπολογισιμότητας*, δηλαδή με την έννοια του υπολογισμού, και κατά συνέπεια μετά τη δεκαετία του '40 και με τους υπολογιστές για τη σχεδίασή τους και για θεωρητικά αποτελέσματα επ' αυτών. Στη σημερινή εποχή τέλος, είναι συνδεδεμένη στενά με τα μαθηματικά αλλά και με κλάδους της επιστήμης υπολογιστών όπως τεχνητή νοημοσύνη, έμπειρα συστήματα και λογική σχεδίαση»⁸. Οι επιστήμες των υπολογιστών χρησιμοποιούν τα εργαλεία της σύγχρονης μαθηματικής επιστήμης για το σχεδιασμό κυκλωμάτων αλλά και για τον έλεγχο της ορθής λειτουργίας των συστημάτων και προγραμμάτων.

Λογικός Προγραμματισμός:

Ένας σημαντικός κλάδος της επιστήμης της Τεχνητής Νοημοσύνης είναι ο Λογικός Προγραμματισμός, που συνιστά στην ουσία μέθοδο διερεύνησης των σχέσεων ανάμεσα στα στοιχεία, των κανόνων που διέπουν την αλληλεπίδρασή τους αλλά και των ερωτήσεων που παρέχουν τις απαραίτητες πληροφορίες σχετικά με τις σχέσεις που συνδέουν τα στοιχεία.

Η σκέψη, στα πλαίσια του λογικού προγραμματισμού, μοντελοποιείται σε μορφή απλοποιημένου κατηγορηματικού λογισμού και μεταβάλλεται σε βασικό εργαλείο διερεύνησης επιστημονικών ή μη προβλημάτων. Πιο συγκεκριμένα, απλές μορφές συλλογισμού ανάγονται σε όρους φορμαλιστικούς και συνθέτουν το λογικό σύστημα. Για να κατανοήσει κανείς το λογικό προγραμματισμό πρέπει να διερευνήσει τη σχέση των όρων *υπολογισμός* και *συμπέρασμα*. Ο Frank Pfenning, καθηγητής στο Carnegie Mellon University, εξηγεί σχετικά με την πιο πάνω θέση τα ακόλουθα: «to compute

⁸ό. π. [12]

we start from a given expression and, according to a fixed set of rules (the program) generate a result [...] To deduce we start from a conjecture and, according to a fixed set of rules (the axioms and inference rules), try to construct a proof of the conjecture» [7] (επιπρόσθετα βλέπε σχετικό άρθρο των A. Kaka, R.A. Kowalski και F. Toni[6]).

Οι επερωτήσεις (ή αλλιώς οι ισχυρισμοί που συνθέτουν το σύστημα) αποτελούνται από προτάσεις οι οποίες χαρακτηρίζονται αληθείς ή ψευδείς. Η σύνταξη της προτασιακής γλώσσας είναι στην ουσία το σύνολο των κανόνων που αφορούν τις επιτρεπτές συνδέσεις που ορίζουν τις ακολουθίες των συμβόλων, ενώ ο παράγοντας της σημασιολογίας αναφέρεται στις σχέσεις ανάμεσα στα σύμβολα. Οι πέντε λογικοί σύνδεσμοι (άρνηση, σύζευξη, διάζευξη, συνεπαγωγή, ισοδυναμία) και τα σύμβολα στίξης αποτελούν τους συνδετικούς κρίκους με τους οποίους ολοκληρώνεται το ψηφιδωτό. Με τα εργαλεία αυτά καθίσταται εφικτή η αναπαράσταση της γνώσης και η εξαγωγή λογικών αποτελεσμάτων μέσα από λογικούς ισχυρισμούς.

Επεκτείνοντας την λογική συμπερασματολογία με την απαγωγική σκέψη, ο *Απαγωγικός Λογικός Προγραμματισμός* (Abductive Logic Programming - ALP)[5] δίνει την δυνατότητα της δημιουργίας ατομικών προτάσεων με κατηγορήματα (predicates) που δεν είναι πλήρως ορισμένα. Τα κατηγορήματα αυτά ονομάζονται *κατηγορήματα υπόθεσης* (abducible predicates), και είναι τα στοιχεία πάνω στα οποία δομείται η απάντηση στην επερώτηση που τίθεται σε ένα οποιοδήποτε απαγωγικό λογικό μοντέλο.

Ένα απαγωγικό λογικό πρόγραμμα αποτελείται από τρεις συνιστώσες: $\langle T, H, IC \rangle$. Το σύμβολο T αντιπροσωπεύει τη *Θεωρία* (Theory), το H είναι το σύνολο των *Κατηγορημάτων υπόθεσης* (Hypotheses), ενώ το IC αντιπροσωπεύει τους *Περιορισμούς* (Integrity Constraints).

Ως *Θεωρία* T ορίζουμε το σύνολο των κανόνων που διέπουν το σύστημα ή το πρόβλημα που μοντελοποιείται, όπως συμβαίνει στον λογικό προγραμματισμό. Οι *Περιορισμοί* ICs συνιστούν, στην ουσία, ένα σύνολο από προτάσεις, που στοχεύουν στον περιορισμό των *Υποθέσεων* H οι οποίες δίνονται ως απάντηση στην οποιαδήποτε επερώτηση, είτε για σκοπούς συνέπειας⁹ είτε για σκοπούς βελτίωσης της ποιότητας των αποτελεσμάτων¹⁰.

Ένας κανόνας περιορισμού έχει την γενική μορφή :

$$ic :- a_1, \dots, a_n, \setminus +b_1, \dots, \setminus +b_m$$

Ο παραπάνω τύπος μεταφράζεται ως απαγόρευση της ταυτόχρονης κατάφασης (αληθείας) των a_1, \dots, a_n και άρνησης των b_1, \dots, b_m .

Κατά τον απαγωγικό λογισμό, η *Επεξήγηση* E , δεδομένου ενός λογικού προγράμματος $\langle T, H, IC \rangle$ και μιας *Παρατήρησης* O (ή, αλλιώς, επερώτησης που αποτελείται από κατηγορήματα της *Θεωρίας* T), συνιστάται από λεκτικά υπόθεσης¹¹ χωρίς ελεύθερα άτομα (*non-grounded*), και ικανοποιεί τις συνθήκες που αναγράφονται στον πίνακα 1:

Πίνακας 1 - Συνθήκες Απαγωγικού Λογισμού

$$\begin{aligned} T \cup E &\models O \\ T \cup E &\models IC \\ E &\subseteq G(H) \end{aligned}$$

Ο πρώτος κανόνας είναι απαραίτητος, εφόσον ο στόχος του απαγωγικού λογισμού είναι να προμηθεύσει τις κατάλληλες υποθέσεις (*Επεξήγηση* E), οι οποίες υποστηριζόμενες από τη *Θεωρία* T καθιστούν την *Παρατήρηση* O αληθή. Με άλλα

⁹ Στο δικό μας σύστημα, για παράδειγμα, ένας τυπικός περιορισμός που εισάγεται από τον χρήστη μπορεί να είναι η απαγόρευση της ενεργοποίησης και απενεργοποίησης του ίδιου γονιδίου ταυτόχρονα. Ένας τέτοιου είδους περιορισμός στοχεύει στη διατήρηση της συνέπειας των αποτελεσμάτων, καθώς ένα γονίδιο δεν δύναται να ενεργοποιείται και να απενεργοποιείται ταυτόχρονα.

¹⁰ Συγκεκριμένοι περιορισμοί όπως για παράδειγμα η απαγόρευση της αυθαίρετης ενεργοποίησης του τελικού στόχου αποβλέπουν στην βελτίωση της ποιότητας των αποτελεσμάτων που παρέχει το σύστημα στο χρήστη.

¹¹ Ως λεκτικό υπόθεσης ορίζεται ένα κατηγορήμα υπόθεσης που εφαρμόζεται σε κάποιους όρους/σύμβολα που και αυτά με την σειρά τους ορίζονται αναδρομικά ως σταθερές, μεταβλητές ή συναρτήσεις.

λόγια, η *Παρατήρηση Ο* πρέπει να αποτελεί λογικό επακόλουθο της σύζευξης της *Θεωρίας* με τις υποθέσεις.

Όπως διατυπώνεται στον δεύτερο κανόνα του πίνακα¹, η νέα *Θεωρία Τ'* ($T' = T \cup E$) πρέπει να υπακούει τους όρους που δίνονται από τους *Περιορισμούς* (ICs). Σημαντικό επακόλουθο του δεύτερου κανόνα, το οποίο οφείλουν να γνωρίζουν όσοι ασχολούνται με το αντικείμενο είναι το ότι τα ICs δεν ευθύνονται για την παραγωγή των υπαρχόντων επεξηγήσεων. Επομένως η χρήση των ICs πρέπει να περιοριστεί στην απόδειξη της εγκυρότητας της επεξήγησης παρά στην δημιουργία της.

Σύμφωνα με τον τρίτο κανόνα του πίνακα 1, η επεξήγηση που παραχωρείται ως απάντηση στην επερώτηση πρέπει να αποτελεί υποσύνολο των λεκτικών υπόθεσης, δηλαδή υποσύνολο των κατηγορημάτων υπόθεσης τα οποία είναι *grounded* (χωρίς ελεύθερα άτομα).

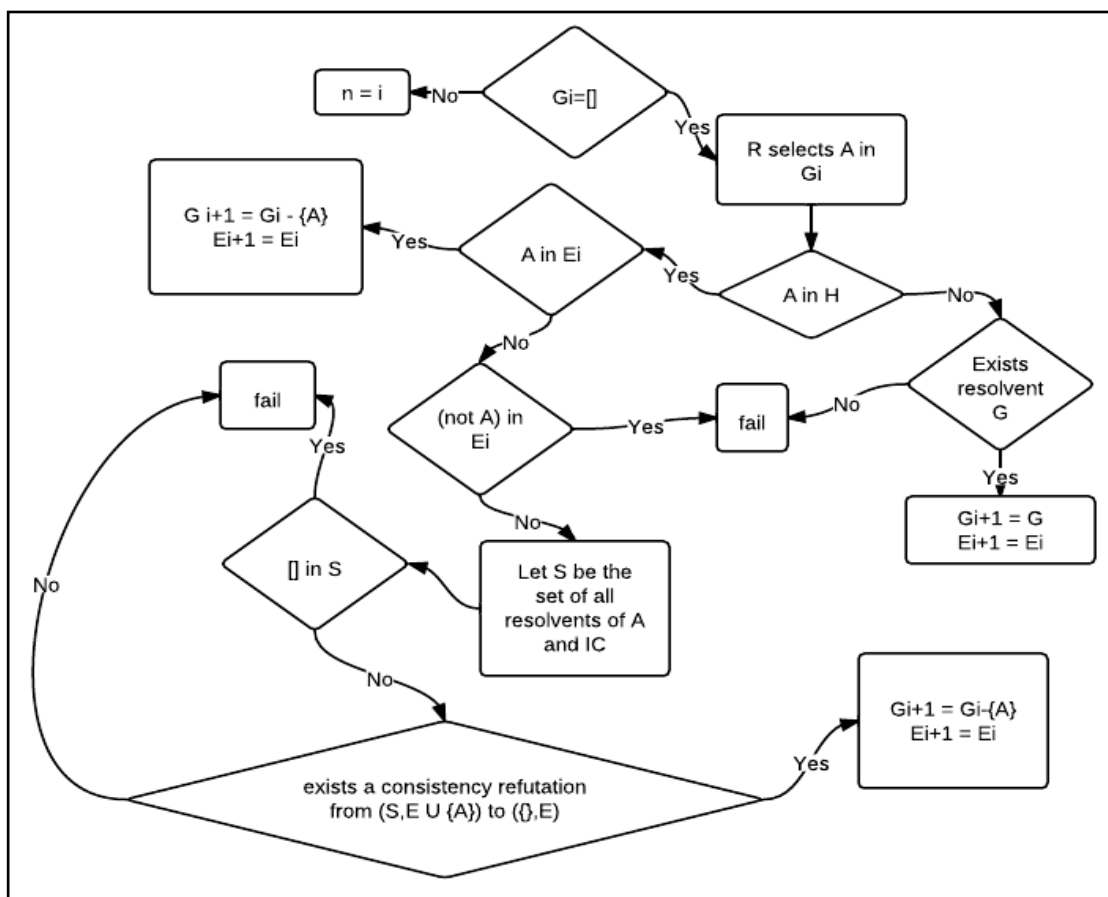
Οι κανόνες που προαναφέρθηκαν αποτελούν το μέτρο εγκυρότητας των επεξηγήσεων που ζητούνται από το απαγωγικό λογικό σύστημα. Πιο συγκεκριμένα, οποιαδήποτε επεξήγηση για να ευσταθεί πρέπει να είναι σύμφωνη με το σύνολο των κανόνων που δίνονται στον πίνακα 1. Η δημιουργία τέτοιων έγκυρων επεξηγήσεων συνιστά διαδικασία που ακολουθεί μεθοδικά τα βήματα του αλγόριθμου του υπολογισμού των υποθέσεων που συντελούν την κάθε επεξήγηση.

Η διαδικασία απόδειξης ακολουθεί το σχεδιάγραμμα ροής, όπως αυτό φαίνεται στην Εικόνα 1. Γραμμένα σε ψευδοκώδικα τα αναδρομικά βήματα της διαδικασίας είναι τα εξής:

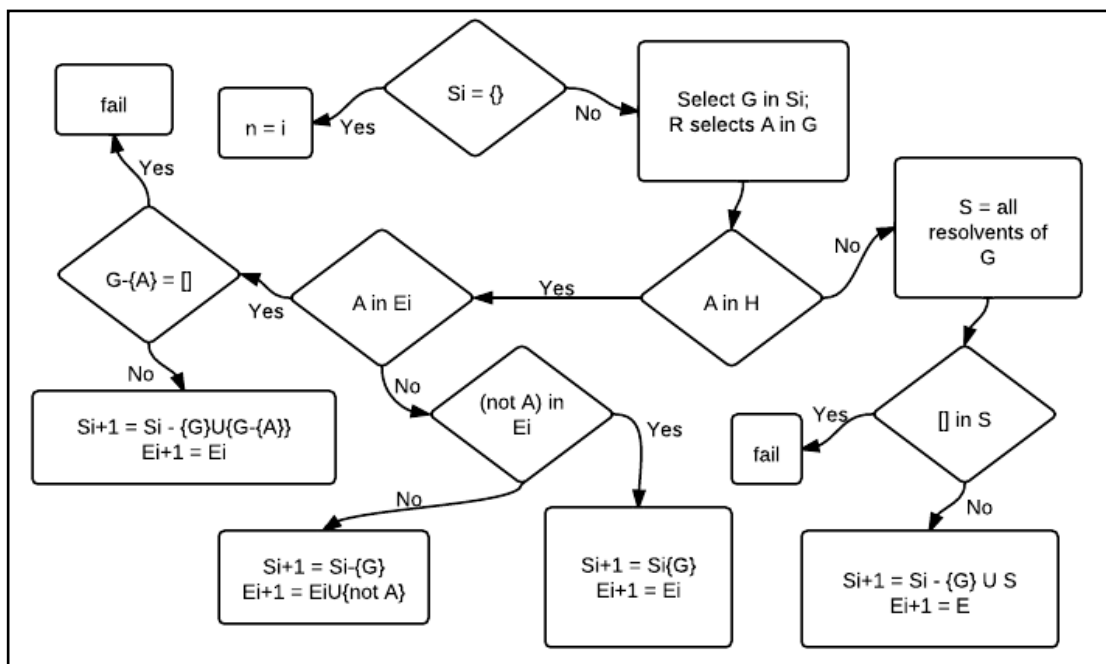
1. Εάν ο στόχος είναι ο κενός στόχος¹² ([]) τότε η απόδειξη θεωρείται επιτυχής. Αλλιώς επιλέγεται ένα λεκτικό από τον στόχο.

¹² Ως κενός στόχος ορίζεται το κενό σύνολο.

2. Εάν το επιλεγμένο λεκτικό δεν είναι λεκτικό υπόθεσης, τότε ελέγχεται η εγκυρότητα του στόχου και συνεχίζει αναδρομικά η απόδειξη.
3. Εάν το επιλεγμένο λεκτικό ανήκει στα λεκτικά υπόθεσης, τότε:
 - Εάν το επιλεγμένο λεκτικό ανήκει ήδη στην επεξήγηση, τότε το λεκτικό αφαιρείται από τον στόχο και συνεχίζεται αναδρομικά η απόδειξη.
 - Εάν υπάρχει η άρνηση του λεκτικού στην επεξήγηση, τότε η απόδειξη αποτυγχάνει, και εκτελείται οπισθοδρόμηση.
 - Εάν δεν ανήκει στην επεξήγηση το λεκτικό, τότε εφόσον δεν παραβιάζεται κανένας περιορισμός(IC), αυτό προστίθεται στην επεξήγηση και αφαιρείται από τον στόχο.



Εικόνα 1 - Εξαγωγή Συμπερασμάτων: Διαδικασία υπολογισμού του ενός οποιουδήποτε ενδιάμεσου στοιχείου $\langle G_{i+1}, E_{i+1} \rangle$, της διαδικασίας ανεύρεσης της επεξήγησης από το δεδομένο ζεύγος $(O, \{\})$ στο ζητούμενο $([], E)$, όπου το κάθε ζεύγος (G, E) αποτελείται από τους στόχους G και της εκάστοτε επεξήγησης E .



Εικόνα 2 – Διαδικασία επιβεβαίωσης της εγκυρότητας των επεξηγήσεων όπου ορίζεται το ενδιάμεσο στοιχείο S_i της σειράς μεταβάσεων $\langle (S_0, E_0), \dots, (S_n, E_n) \rangle$, με το S_n αναπαριστά το σύνολο των περιορισμών εγκυρότητας και το E_i τις εκάστοτε επεξηγήσεις.

Ο έλεγχος παραβίασης των περιορισμών αποτελεί από μόνος του ξεχωριστή διαδικασία. Στην Εικόνα 2 διαγράφεται σχηματικά η επιβεβαίωση της εγκυρότητας σχετικά με την εκάστοτε επεξήγηση E_i , ως προς τους περιορισμούς που τίθενται από το μοντέλο. Με άλλα λόγια, επιβάλλεται οι επεξηγήσεις που δίνονται ως απάντηση από το σύστημα να είναι σύμφωνες με τους περιορισμούς για να μπορούν να θεωρηθούν έγκυρες επεξηγήσεις. Καθώς οι περιορισμοί εγκυρότητας ICs διατηρούν τη μορφή $fail :- a_1, \dots, a_n$, επιβάλλεται, κατά τον απαγωγικό συμπερασμό, να αποτύχουν, ή, αλλιώς, να μην υπάρχει τρόπος επιτυχίας τους.

Για αυτό τον σκοπό, επιλέγεται ένας από τους περιορισμούς του συνόλου S και, ακολούθως, επιλέγεται ένα λεκτικό G από τον περιορισμό. Κατόπιν, εάν το λεκτικό αυτό δεν είναι λεκτικό υπόθεσης, τότε ελέγχεται κατά πόσο ευσταθεί ο επιλεγμένος περιορισμός. Στην περίπτωση που ο περιορισμός ευσταθεί, ο έλεγχος αποτυγχάνει, ενώ στην αντίθετη περίπτωση αφαιρείται το λεκτικό G από τους περιορισμούς και συνεχίζει η εγκυρότητα των περιορισμών, διατηρώντας τις επεξηγήσεις χωρίς καμία μετατροπή. Εάν το λεκτικό G που επιλέχτηκε ανήκει στα λεκτικά υπόθεσης, τότε

ελέγχεται η ύπαρξη του στην επεξήγηση είτε ως θετικό λεκτικό είτε ως άρνηση αυτού. Στην περίπτωση που *δεν ανήκει* στην επεξήγηση, τότε εισάγεται η άρνηση του λεκτικού¹³, εάν αυτή δεν υπάρχει ήδη, και συνεχίζεται αναδρομικά ο έλεγχος παραβίασης των περιορισμών. Στην περίπτωση, όμως, κατά την οποία το λεκτικό G , ανήκει στην επεξήγηση, εάν το λεκτικό αυτό είναι το τελευταίο από τα λεκτικά του περιορισμού, τότε επιτυγχάνει ο στόχος και έτσι παραβιάζεται ο περιορισμός S_i , αλλιώς αφαιρείται το λεκτικό G και συνεχίζει η επιβεβαίωση των περιορισμών.

Ενσωματώνεται, στο σημείο αυτό, ένα παράδειγμα απαγωγικού λογικού προγράμματος που προσομοιώνει την λειτουργία μίας λογικής πύλης *NOT*. Η πύλη *NOT* έχει ως έξοδο το αντίστροφο της εισόδου της, όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα 2:

Πίνακας 2- Πίνακας αληθείας πύλης NOT

Είσοδος	Έξοδος
0	1
1	0

Ένα μοντέλο της λογικής πύλης *NOT* θα μπορούσε να είναι το σύνολο των κατηγορημάτων που αναγράφονται στον κώδικα 1, ο οποίος περιγράφεται παρακάτω. Όπως φαίνεται στον πίνακα, ως έξοδος μιας λογικής πύλης *NOT* ορίζεται το αντίστροφο της εισόδου της, εφόσον, όμως, αυτό δεν παρουσιάζει ανωμαλία κατά τη λειτουργία του. Στην περίπτωση κατά την οποία η λογική πύλη *δυσλειτουργεί* (*broken/1*), τότε η έξοδος ταυτίζεται με την είσοδο.

```
output(Gate, Value) :-
    inverter(Gate),
    input(Gate, InValue),
    opposite(InValue, Value),
    not (broken(Gate)).
```

¹³Εισάγεται η άρνηση του λεκτικού καθώς επιθυμείται η αποτυχία του περιορισμού.

```

output(Gate, InValue) :-
    inverter(Gate),
    input(Gate ,InValue),
    broken(Gate).

opposite(on, off).
opposite(off, on).

ic :- output(Gate, on), output(Gate, off).
ic :- input(Gate, on), input(Gate, off).

abducible(broken).

```

Κώδικας 1 - Μοντέλο Πύλης NOT

Με βάση το παραπάνω μοντέλο, ένα τυπικό κύκλωμα θα μπορούσε να είναι το ακόλουθο όπου η πύλη g1 έχει ως είσοδο ρεύμα On και η έξοδος της διοχετεύεται στην πύλη g2 ως είσοδος:

```

inverter(g1).
inverter(g2).

input(g1,on).
input(g2,Value) :- output(g1,Value).

```

Όπως φαίνεται στον κώδικα 1, το μοναδικό κατηγορημα που δεν έχει οριστεί είναι το broken/1. Δηλώνοντας το κατηγορημα broken ως κατηγορημα υπόθεσης, δίνουμε στο σύστημα απαγωγικού λογισμού την δυνατότητα να υποθέσει την κατάσταση της πύλης *Gate*, ως *broken* ή *not broken* αναλόγως της επερώτησης¹⁴.

Εκτελώντας την επερώτηση *query(output(g2,on),A)*.¹⁵ λαμβάνουμε ως απάντηση το κενό σύνολο. Αυτή η εκδοχή απάντησης χαρακτηρίζεται αναμενόμενη, καθώς η έξοδος της πύλης g2 που ορίζεται στην επερώτηση είναι η αναμενόμενη, κατά τη

¹⁴ Η επερώτηση εξάγεται από τις παρατηρήσεις του πειραματιστή.

¹⁵ Η επερώτηση αυτή παράγεται από την παρατήρηση της εξόδου της πύλης g2 ως On.

φυσιολογική λειτουργία του κυκλώματος, έξοδος, σύμφωνα με όσα προαναφέρθηκαν σχετικά με τις πύλες NOT^{16} .

Πρέπει να διευκρινιστεί σε αυτό το σημείο ότι υπάρχει ως απάντηση της επερώτησης και η υπόθεση που θέλει και τις δύο πύλες να είναι δυσλειτουργικές (*broken/1*). Ωστόσο το σύστημα απαγωγικού λογικού προγραμματισμού *A-system*[1] που χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό των υποθέσεων, υπολογίζει το ελάχιστο σύνολο υποθέσεων Δ_i τέτοιο ώστε να μην υπάρχει ένα σύνολο υποθέσεων $\Delta_j \subset \Delta_i$.

Στην αντίθετη περίπτωση της επερώτησης $query(output(g2,off), A)$, οι επεξηγήσεις που δίνονται από το σύστημα είναι οι εξής: είτε δυσλειτουργεί η πύλη $g2$, είτε δυσλειτουργεί η πύλη $g1^{17}$. Το παράδειγμα καθιστά ευνόητο το ότι η πολυπλοκότητα των απαντήσεων ανεβαίνει αναλογικά με την πολυπλοκότητα του κυκλώματος καθώς οι πιθανοί συνδυασμοί των υποθέσεων είναι περισσότεροι. Για να περιοριστεί το πλήθος των επεξηγήσεων που παρέχονται από το σύστημα, είναι αναγκαία η ενσωμάτωση επιπρόσθετης πληροφορίας. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την απόρριψη όσων επεξηγήσεων δεν συνάδουν με το άθροισμα των δεδομένων στα οποία στηρίζεται το εκάστοτε πείραμα.

¹⁶ Η φυσιολογική λειτουργία του κυκλώματος δεν απαιτεί υποθέσεις ως απάντηση για οποιαδήποτε επερώτηση.

¹⁷ $E = [[broken(g2)], [broken(g2)]]$.

Κεφάλαιο 4: “ApoCelSys”: η συστημική ανάλυση των καρκινικών κυττάρων και η επίδραση πιθανών ανασταλτικών φαρμάκων.

4.1 Περιγραφή των απαιτήσεων του συστήματος: προδιαγραφές και δεδομένα.

Σήματα συνόρου (Boundary signals) και (επιθυμητός) τελικός προορισμός(Απόπτωση):

Η βιολογία καρκίνου αποτελεί στις μέρες μας σημαντικό κλάδο της επιστημονικής έρευνας και βασικό αντικείμενο μελέτης των σύγχρονων βιολόγων. Η καρκινογένεση, ως πολυπαραγοντική βιολογική απόκλιση της φυσιολογικής πορείας των κυττάρων του ανθρώπινου σώματος, αλλά και το πρόβλημα της αναζήτησης μιας αποτελεσματικής φαρμακευτικής αγωγής συνιστούν προβληματισμούς που ταλανίζουν το σύνολο της επιστημονικής ιατρικής κοινότητας στις μέρες μας. Οι βιολογικές επιστήμες επιχειρούν την διερεύνηση της επίδρασης φαρμακευτικών ουσιών σε καρκινικές σειρές που αποτελούν κλώνους του ίδιου κυττάρου. Οι ομάδες των καρκινικών κυττάρων αντιμετωπίζονται από την έρευνα ως ένα σύνολο. Σύμφωνα με νεότερες μελέτες, η συμπεριφορά ενός κυττάρου, ή μιας ομάδας κυττάρων αποτελεί συνέπεια των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των οργανιδίων και των μερών του κυττάρου (*κυτταρικό περιεχόμενο*), των ίδιων των κυττάρων μεταξύ τους (*διακυτταριδιακή επικοινωνία*), αλλά και των ομάδων των κυττάρων (*ιστική επικοινωνία*). Η εξέταση του κυτταρικού πεδίου ως μια ολότητα, γνωστή ως συστημική προσέγγιση, συνιστά σήμερα μια από τις βασικότερες μεθόδους έρευνας ιδιαίτερα στην επιστήμη της βιολογίας.

Για την κατανόηση της συστημικής οπτικής απαραίτητη είναι η αναφορά στα γενικά χαρακτηριστικά της έννοιας του συστήματος. Ως *σύστημα* ορίζεται το άθροισμα αριθμού στοιχείων που εμπίπτουν σε ένα σύνολο και συνδέονται μεταξύ τους με

σχέσεις αλληλεπίδρασης. Η συστημική προσέγγιση της βιολογίας δεν περιορίζεται στην απλή αναγνώριση των συστατικών μερών του συστήματος, αλλά προχωρεί στη κατανόηση της αλληλεπίδρασης ανάμεσα στα επιμέρους αυτά σύνολα. Εξετάζοντας το κύτταρο όπως ένα σύστημα αντιλαμβανόμαστε ότι όμοια με τη βασική ιδέα της έννοιας του συστήματος, το κύτταρο διατηρεί το στοιχείο της *εισόδου – εξόδου*. Εντοπίζεται, με άλλα λόγια, στο κύτταρο ο παράγοντας της *αρχής και του τέλους*.

Πιο συγκεκριμένα, ένα κύτταρο αφού συμπληρώσει ένα συγκεκριμένο αριθμό διαιρέσεων ή πάθει ανεπανόρθωτη βλάβη, λαμβάνει σήμα για κυτταρικό θάνατο και εντέλει αποσυντίθεται τερματίζοντας το βιολογικό του κύκλο. Αξίζει να σημειωθεί ότι το σήμα του κυτταρικού θανάτου, για το οποίο γίνεται λόγος εδώ, διατηρεί ποικίλες μορφές όπως για παράδειγμα την πρόσδεση ενός εξωκυττάριου συνδέτη σε ένα υποδοχέα του κυττάρου ή την καταστροφή στο DNA. Στην παρούσα μελέτη οι προαναφερθείσες μορφές σήματος αντιμετωπίζονται ως εξωγενείς παράγοντες και για αυτό ακριβώς το λόγο ονομάζονται *σήματα συνόρου (boundary signals)*. Το μοναδικό σήμα κυτταρικού θανάτου που δεν είναι εξωγενής παράγοντας είναι οι βλάβες στο DNA (dna damage)¹⁸, γιατί παράγεται από ενδοκυτταρικές διεργασίες ελέγχου της κανονικής λειτουργίας του κυττάρου. Ωστόσο, και αυτό το σήμα αντιμετωπίζεται εδώ ως boundary signal. Αναφορικά με τα *σήματα συνόρου* (μπορούν να ονομαστούν και *σήματα εισόδου του συστήματος*) πρέπει να σημειωθεί ότι παρόλο που η αιτία της διαμόρφωσής τους αλλά και η προέλευσή τους δεν είναι άγνωστη¹⁹ εντούτοις δεν ενδιαφέρει τη μελέτη μας.

Μετά τη λήψη ενός σήματος συνόρου, το κύτταρο καταλήγει μέσα από αλληλουχία διεργασιών στην κατάσταση της *απόπτωσης*. Η αλληλουχία αυτή είναι που θα αποτελέσει τη βάση πάνω στην οποία θα δομηθεί η παρούσα διπλωματική διατριβή.

¹⁸ Οι βλάβες στο DNA ενδέχεται να προκληθούν και από εξωγενείς παράγοντες, όπως η ηλιακή ακτινοβολία, οι ακτίνες X και η ακτινοθεραπεία. Αυτές οι αιτίες θεωρούνται εξωγενείς παράγοντες κυτταρικής βλάβης και αιτία κυτταρικού θανάτου.

¹⁹ Ποικίλες ερευνητικές προσπάθειες εστιάζουν με επιτυχία στις αιτίες δημιουργίας αυτών των σημάτων εισόδου του συστήματος, ωστόσο δεν αφορούν την ερευνητική διαδικασία που σχετίζεται με το σύστημα της παρούσας μελέτης.

Αξίζει να αναφέρουμε ότι η ίδια η διαδικασία του κυτταρικού θανάτου (απόπτωσης) αποτελεί λειτουργία πολύπλοκη και ξεχωριστή από την αλληλουχία των διεργασιών που μας φέρνουν στο τελικό στάδιο της απόπτωσης²⁰.

Η απόπτωση ή ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος (*programmed cell death*) είναι μια σημαντική φυσιολογική λειτουργία που εκτελείται στους πολυκύτταρους οργανισμούς. Η φυσιολογική αυτή διεργασία λειτουργεί ως ομοιοστατικός μηχανισμός στην διαδικασία αντικατάστασης των κυττάρων ώστε να διατηρείται ο σωστός αριθμός κυττάρων στους ιστούς αλλά και στην ανάπτυξη του οργανισμού. Επίσης, συμμετέχει στη σωστή λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος και δρα ως μηχανισμός άμυνας σε περιπτώσεις όπου τα κύτταρα έχουν υποστεί βλάβη λόγω ασθενειών ή εξωγενών παραγόντων (*Norbury C.J. and Hickson I.D., 2001*). Η δυσλειτουργία των μηχανισμών της απόπτωσης, προκαλεί διάφορα προβλήματα στον οργανισμό όπως νευροεκφυλιστικές ασθένειες, αυτοάνοσα νοσήματα και πολλούς τύπους καρκίνου. Η κατανόηση του μηχανισμού του κυτταρικού κύκλου και των μονοπατιών σηματοδότησης με σκοπό τη ρύθμιση της απόπτωσης των κυττάρων, μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην θεραπεία πολλών ασθενειών.

Αξίζει να αναφέρουμε ότι τα μορφολογικά χαρακτηριστικά της απόπτωσης είναι συνοπτικά τα ακόλουθα: «συρρίκνωση του κυττάρου χωρίς διάσπαση της κυτταρικής μεμβράνης, πύκνωση της πυρηνικής χρωματίνης, κατάτμηση του DNA, κατάτμηση του πυρήνα και κατάτμηση του κυττάρου σε σωματίδια που περικλείονται από κυτταρική μεμβράνη σχηματίζοντας κυστίδια που ονομάζονται αποπτωτικά σωματίδια»[2].

Μεταγωγή σήματος εντός του κυττάρου:

Η διαδικασία μετάδοσης της εντολής για εκκίνηση του μηχανισμού κυτταρικού θανάτου συνιστά μια σειρά βιοχημικών αντιδράσεων στην οποία εφαρμόζεται ο κανόνας της αιτιοκρατίας (*cause and effect*). Με άλλα λόγια, το σήμα μεταφέρεται διαδοχικά διαμέσου των συνδεδεμένων πρωτεϊνών με στόχο την απόπτωση.

²⁰Εντούτοις, οι διεργασίες αυτές καθαυτές που συνιστούν την απόπτωση δεν αποτελούν στόχο του παρόντος πονήματος.

Για να κατανοηθεί η διαδικασία αυτή της μετάδοσης σήματος, πρέπει πρώτα να περιγραφεί η σύσταση του κυττάρου. Βασικό δομικό στοιχείο των κυττάρων αποτελεί το DNA που εμπεριέχει τα γονίδια, τα οποία συνθέτουν το κυτταρικό σύστημα. Μέσω της διακλαδωμένης σύνδεσης των γονιδίων πραγματοποιείται και η μεταφορά του σήματος ή της κωδικοποιημένης πληροφορίας. Η διαδικασία αυτή καλείται γονιδιακή έκφραση (gene expression) και συνιστά στην ουσία την μεταφορά των πληροφοριών που ονομάζουμε σήμα στο λειτουργικό προϊόν των γονιδίων (πρωτεΐνη ή RNA). Με τη μεταγωγή του σήματος έχουμε τη γονιδιακή έκφραση που δεν είναι παρά η αύξηση της ποσότητας της πρωτεΐνης που παράγεται στο γονίδιο. Όταν πραγματοποιηθεί η αύξηση, τότε το γονίδιο είναι ενεργό.

Υπάρχουν δύο κύρια αποπτωτικά μονοπάτια, το ενδογενές ή μιτοχονδριακό μονοπάτι και το εξωγενές ή μονοπάτι υποδοχέα θανάτου. Τα δύο μονοπάτια συνδέονται και τα μόρια που λαμβάνουν μέρος στο ένα μπορούν να επηρεάσουν το άλλο [18]. Τα σήματα που ενεργοποιούν το εξωγενές μονοπάτι σχετίζονται με την πρόσδεση ενός συνδέτη με διαμεμβρανικούς υποδοχείς του κυττάρου. Το ενδογενές μονοπάτι ενεργοποιείται από σήματα όπως την απουσία αυξητικών παραγόντων, ορμονών και κυτοκινών που είναι υπεύθυνα για την αναστολή των αποπτωτικών μηχανισμών και την επίδραση της ραδιενέργειας, τοξινών, υποξίας, ιικών σωματίων και ελευθέρων ριζών και εμπλέκει την απελευθέρωση προ-αποπτωτικών μορίων από το μιτοχόνδριο. Το ενδογενές και εξωγενές μονοπάτι συγκλίνουν προς το τελικό εκτελεστικό μονοπάτι της απόπτωσης μέσω της ενεργοποίησης των κασπάσεων τελεστών. Οι κασπάσες επιδρούν σε ένα μεγάλο αριθμό υποστρωμάτων με αποτέλεσμα την αποικοδόμηση πυρηνικών και κυτταροσκελετικών πρωτεϊνών, αποδιοργάνωση του κυτταροσκελετού, συμπύκνωση της χρωματίνης και του κυτοπλάσματος, κατάτμηση του DNA και τέλος δημιουργία αποπτωτικών σωματίων. Η αποικοδόμηση του DNA όμως και οι περαιτέρω αλλαγές μπορούν να γίνουν και

ανεξάρτητα των κασπάσεων, μέσω της δράσης παραγόντων που απελευθερώνονται από τα μιτοχόνδρια όπως τον AIF και την ενδονουκλεάση G.

Σύμφωνα με βιβλιογραφικά δεδομένα, η Βιταμίνη E μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην θεραπεία κατά του καρκίνου [17]. Στην πειραματική δραστηριότητα που αποτελεί βάση της παρούσας διπλωματικής διατριβής μελετείται η ικανότητα ενός συνθετικού παραγώγου της βιταμίνης E (VitE-SD, vitamin E synthetic derivative) να επάγει απόπτωση σε καρκινικά κύτταρα μαστού. Χρησιμοποιούνται δύο κυτταρικές σειρές, η MCF-7 και η MDA-MB-231 που παρουσιάζουν διαφορές στο κυτταρικό περιεχόμενο με σκοπό να μελετήσουμε την απόκρισή τους παρουσία της ουσίας. Τα MCF-7 κύτταρα δεν εκφράζουν την κασπάση-3 που δρα ως τελεστής του αποπτωτικού σήματος ενώ τα MDA-MB-231 εκφράζουν μεταλλαγμένη, μη λειτουργική μορφή της πρωτεΐνης p53, που παίζει κεντρικό ρόλο στην επαγωγή της απόπτωσης.

Τα κύτταρα καλλιεργούνται και πολλαπλασιάζονται μέσα σε φλάσκες κυτταροκαλλιέργειας σε ειδικό επωαστικό θάλαμο (κλίβανο) θερμοκρασίας 37 °C, παρουσία 5% CO₂. Για την διατήρηση των κυττάρων στις φλάσκες απαιτείται η χρήση θρεπτικού υλικού, το οποίο ανανεώνεται 2-3 φορές τη βδομάδα. Το θρεπτικό υλικό περιέχει αναγκαία θρεπτικά συστατικά και ειδικούς αυξητικούς παράγοντες. Για την ημι-ποσοτική μέτρηση των επιπέδων διαφόρων πρωτεϊνών στα κύτταρα, εφαρμόζεται η τεχνική Western Blot. Τα κύτταρα επωάζονται για διάφορα χρονικά διαστήματα και με διάφορες συγκεντρώσεις VitE-SD. Στη συνέχεια ακολουθεί απομόνωση, ποσοτικοποίηση και ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνών σε πήκτωμα ακρυλαμίδης. Οι πρωτεΐνες υπό μελέτη ανιχνεύονται με ειδικά αντισώματα και οι μεταβολή στα επίπεδά τους υπολογίζεται μετά από σύγκριση με το δείγμα μάρτυρα-τα κύτταρα στα οποία δεν έγινε προσθήκη της ουσίας.

Η μεταγωγή του σήματος²¹ με στόχο την έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων, σε πολλές περιπτώσεις, δύναται να εμποδιστεί λόγω δράσεως συγκεκριμένης αλληλουχίας γονιδίων. Στην περίπτωση αυτή, η διαδικασία αυτή καλείται αποσιώπηση γονιδίων (silencing) ή όπως θα αναφέρεται στην συνέχεια, *απενεργοποίηση*, με αποτέλεσμα την μείωση της ποσότητας της παραχθείσας πρωτεΐνης²². Πρέπει να τονιστεί πως η *απενεργοποίηση* των γονιδίων δεν αποτελεί κατ' ανάγκη μη φυσιολογικό μηχανισμό των κυττάρων. Το γονίδιο ή η ομάδα γονιδίων που έχουν αυτή την ιδιότητα καλούνται κατασταλτικά γονίδια. Τα γονίδια καταστολείς ή αλλιώς ογκοκαταστάτες (*tumor suppressor genes*) έχουν περιγραφεί εκτενώς στη διεθνή βιβλιογραφία και εμπλέκονται σε φυσιολογικούς και παθολογικούς μηχανισμούς, όπως η καρκινογένεση. Αντίστοιχα ανευρέθηκαν γονίδια ενεργοποιητές ή ογκογονίδια (*activator genes* ή *oncogenes*) με αντίθετη δράση. Στα καρκινικά κύτταρα γίνονται μεταλλαγές που αναστέλλουν τη διαδικασία της απόπτωσης και επάγουν την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό.

Τα ενδοκυτταρικά μονοπάτια μεταγωγής του σήματος αποτελούν πολύπλοκες διεργασίες, που σχετίζονται στενά με την επίσης πολυσύνθετη διεργασία του ελέγχου της γονιδιακής έκφρασης (*gene expression*). Το άθροισμα αυτών των διεργασιών θεωρείται ως ενιαία διαδικασία των επιμέρους τμημάτων. Ωστόσο, η πολυσύνθετη διαδικασία μεταγωγής του σήματος για κυτταρικό θάνατο που αποτελεί αιτία του *προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου* προσλαμβάνεται, στα πλαίσια του παρόντος

²¹ Καθώς οι σηματοδοτικές οδοί που συνδέουν τα γονίδια του ενδοκυτταρικού συστήματος είναι πολλές, το σήμα για κυτταρικό θάνατο φτάνει στην έξοδο από ποικίλους δρόμους. Οι συνδέσεις αυτές παρουσιάζονται, στο σύστημα του παρόντος πονήματος, με τη μορφή μιας εξαιρετικά πολύπλοκης δικτυωτής αναπαράστασης στην οποία καθίσταται φανερό ότι το σήμα της απόπτωσης δύναται να φτάσει στον στόχο ακόμη κι αν αποσιωπηθεί σε ορισμένα σημεία (σηματοδοτικές οδούς). Η αποσιώπηση των γονιδίων και η συνεκδοχική αναστολή τους (*inhibited genes*) είναι οι αιτίες που αφορούν την σχετική προς το σύστημά μας ερευνητική μελέτη.

²² Τα ανθρώπινα κύτταρα παράγουν χιλιάδες πρωτεΐνες. Πιο συγκεκριμένα το 30% του όγκου των κυττάρων αποτελείται από πρωτεΐνες, οι οποίες εντοπίζονται σε ποικίλα σημεία του κυττάρου. Οι πρωτεΐνες που παράγει το κάθε γονίδιο μεταφέρονται προς όλες τις κατευθύνσεις, ωστόσο επικοινωνούν αποκλειστικά με όσες είναι προορισμένες να συνδεθούν (για να γίνει αυτό πρέπει μια συγκεκριμένη πρωτεΐνη να ελέγχεται από σήματα τα οποία προορίζονται προς αυτή και όχι από άλλα τα οποία έχουν σκοπό να ελέγξουν άλλες πρωτεΐνες). Όταν η πρωτεΐνη προσεγγίσει γονίδιο το οποίο διαθέτει τους ανάλογους υποδοχείς προσκολλάται και η διαδικασία συνεχίζεται επαναλαμβανόμενη.

πονήματος, ως ενιαία διεργασία αντί για πολύπλοκο άθροισμα διεργασιών, και για αυτό το λόγο περιορίζεται, εδώ, στο μέγεθος μιας απλής αναφοράς.

Ξενοβιοτικοί παράγοντες και μεταλλάξεις γονιδίων:

Η μεταγωγή του σήματος δεν οδηγεί υποχρεωτικά στην αποικοδόμηση του ίδιου του κυττάρου και τον κυτταρικό θάνατο. Η διάδοση του σήματος εμποδίζεται, σε πολλές περιπτώσεις, από σωρεία ανώμαλων μηχανισμών, με αποτέλεσμα να μην οδηγείται το κύτταρο στην αποσύνθεση και να συνεχίζει να πολλαπλασιάζεται. Αυτή η παρέκκλιση αποτελεί τη βάση της καρκινογένεσης. Ο καρκίνος δεν είναι παρά μια νόσος που χαρακτηρίζεται από τον πολλαπλασιασμό των δυσλειτουργικών αυτών κυττάρων²³.

Όλα τα παραπάνω δημιουργούν εύλογα ερωτήματα, σχετικά με τα αίτια των ανώμαλων λειτουργιών, την προέλευσή τους αλλά και την αδυναμία να προκληθεί απόπτωση των καρκινικών κυττάρων.

Μια από τις βασικές αιτίες της καρκινογένεσης αποτελούν η ενεργοποίηση των *ογκογονιδίων* και η απενεργοποίηση των *ογκοκαταστάλτων*. Η σύγχρονη έρευνα διαχώρισε μια ομάδα γονιδίων κατατάσσοντας αυτά στις δύο κατηγορίες των ογκογονιδίων και των ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Στην πρώτη κατηγορία, τα γονίδια ενεργοποιούνται αυθαίρετα καταστέλλοντας τη μεταγωγή του σήματος προς την απόπτωση. Το αποτέλεσμα είναι η αδυναμία τερματισμού του κυτταρικού κύκλου και η απόπτωση. Αντιθέτως, τα ογκοκατασταλτικά γονίδια, στα πλαίσια της κανονικής του λειτουργίας, ενεργούν ανασταλτικά εμποδίζοντας την ογκογένεση. Στα καρκινικά

²³ Τα καρκινικά κύτταρα χρησιμοποιούν τους ίδιους βασικούς μηχανισμούς ελέγχου για τη μεταγωγή σήματος με αυτούς που υπάρχουν στα φυσιολογικά κύτταρα. Η διαφορά είναι ότι τα καρκινικά κύτταρα έχουν προκαλέσει μικρές διαφοροποιήσεις σε αυτούς τους μηχανισμούς οι οποίες όμως είναι αρκετές για την καρκινογένεση.

κύτταρα μειώνεται η λειτουργία των ογκοκαταστάτων επιτρέποντας με αυτό τον τρόπο τη φραγή της απόπτωσης και εμποδίζοντας την αποσύνθεση του κυττάρου.

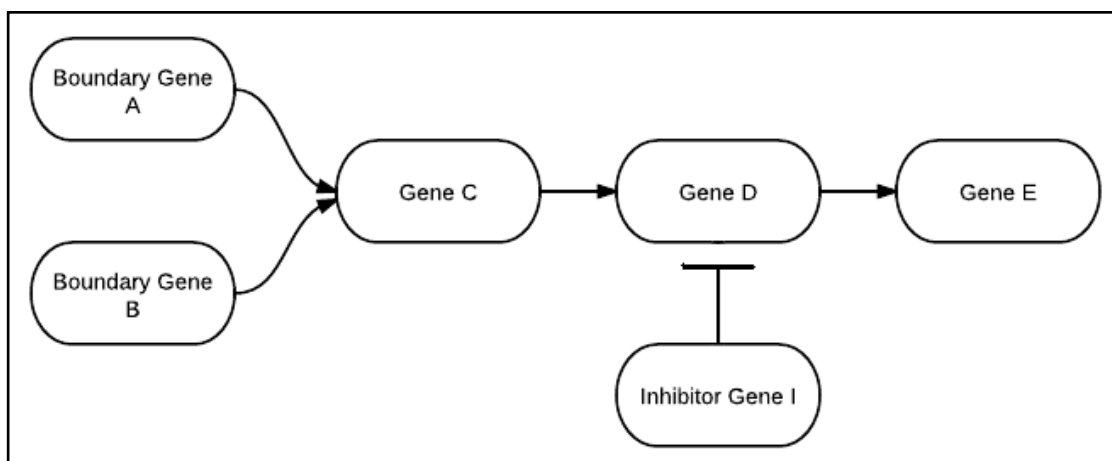
Εκτός από τις δύο αυτές ομάδες γονιδίων που θεωρούνται βασική αιτία της καρκινογένεσης, έχει καταγραφεί πληθώρα επιπρόσθετων αιτιών καρκίνου, όπως για παράδειγμα η μετάλλαξη²⁴. Σε αυτή την περίπτωση, τα γονίδια υπόκεινται σε λειτουργικές αλλαγές με αποτέλεσμα να αναστέλλεται η κανονική τους λειτουργία. Οι μεταβολές στη χημική σύσταση του DNA έχουν ως αντίκτυπο τη διαταραχή της λειτουργίας των γονιδίων, με αποτέλεσμα την απόκλιση από τη φυσιολογική. Πιθανή συνέπεια αυτής της δυσλειτουργίας είναι η επέμβαση στην κανονική μετάδοση του σήματος για κυτταρικό θάνατο και συνεκδοχικά η εμπόδιση της ομαλής διεξαγωγής του κυτταρικού κύκλου ζωής.

Η επιστημονική έρευνα καταπιάνεται εδώ και χρόνια με την αναζήτηση αποτελεσματικών θεραπειών που σχετίζονται με τον καρκίνο αλλά και τις άλλες μάστιγες της εποχής μας. Οι επιστήμονες επικεντρώνουν την έρευνά τους σε συγκεκριμένα φάρμακα ελπίζοντας ότι η δράση τους θα αποκαταστήσει την κανονική λειτουργία των πρωτεϊνών και γονιδίων ώστε το κύτταρο να επιτελέσει κανονικά τον κύκλο ζωής του και να φθάσει, όπως αναμένεται, στην απόπτωση. Δυστυχώς δεν έχει καταστεί ακόμη δυνατή η εξ ολοκλήρου εξέταση και γνώση της επίδρασης των φαρμάκων που χορηγούνται. Οι ερευνητές επιχειρούν να εξετάσουν που κατευθύνεται ακριβώς η δράση των φαρμάκων που χορηγούνται, πως πραγματοποιείται η λειτουργία τους αλλά και με ποιο τρόπο επιδρούν τα φάρμακα στο κάθε γονίδιο. Αξίζει να αναφερθεί, στο σημείο αυτό, ότι η απαγωγική μέθοδος που προσφέρει το πρόγραμμά μας εμφανίζεται πολλά υποσχόμενη, καθώς δίνει την

²⁴ «Ως μετάλλαξη ορίζεται κάθε αιφνίδια κληρονομήσιμη αλλαγή του γενετικού υλικού, η οποία δεν δημιουργείται από τους γνωστούς μηχανισμούς που ανασυνδυάζουν τα γονίδια (δηλ. τον εγγενή τρόπο αναπαραγωγής, τον τυχαίο ανασυνδυασμό των ασύνδετων γονιδίων και τον διασκελισμό) [...] Οι μεταλλάξεις είναι δυνατό να δημιουργηθούν είτε φυσικά (αυτόματα) ή τεχνητά. Οι τεχνητές μεταλλάξεις δημιουργούνται με την επίδραση μεταλλαξιγόνων παραγόντων (πχ ακτίνων Χ, χημικών ενώσεων) πάνω στους οργανισμούς. Μεταλλάξεις μπορούν να δημιουργηθούν σε οποιοδήποτε στάδιο της ανάπτυξης του ατόμου, σε γεννητικά (γεννητικές μεταλλάξεις) ή σωματικά (σωματικές μεταλλάξεις) κύτταρα». [13]

ευκαιρία στον ερευνητή να αντλεί πλήθος βιολογικών δεδομένων, να αποθηκεύει αποτελέσματα βιολογικών πειραμάτων, να εξάγει με βάση αυτά νέες υποθέσεις και να τις διερευνά.

Δίνεται, στο σημείο αυτό, ένα δείγμα αναπαράστασης της διάδοσης του σήματος στο ενδοκυτταρικό περιβάλλον με στόχο την όσο το δυνατό καλύτερη διασάφηση του τρόπου μεταγωγής του σήματος για απόπτωση. Οι συνδέσεις που καθορίζουν τη μεταγωγή του σήματος μέσω των ενδοκυτταρικών μονοπατιών σκιαγραφούνται μέσα από το αφηρημένο κύκλωμα που δίνεται παρακάτω (Εικόνα 3):



Εικόνα 3 - Αφηρημένο ενδοκυτταρικό περιβάλλον: με τόξο αποτυπώνονται οι ενεργητικές συνδέσεις, ενώ με κάθετη γραμμή, σκιαγραφούνται οι ανασταλτικές συνδέσεις μεταξύ των γονιδίων

Στο παραπάνω σχήμα αποδίδονται τα βασικότερα στοιχεία του κυτταρικού περιβάλλοντος τα οποία αφορούν το σύστημά μας. Τα στοιχεία αυτά, που αποτελούν τις βασικές αρχές της μοντελοποίησης που προτείνεται εδώ, είναι τα εξής: τα σήματα συνόρου (Boundary Gene A και Boundary Gene B), το σημείο εξόδου (Gene E), αλλά και τα ενδιάμεσα γονίδια που εκτελούν τη διαδικασία μεταφοράς του σήματος. Τα γονίδια A,B,C,D και E, είναι συνδεδεμένα με κατευθυνόμενες ενεργητικές συνδέσεις μεταξύ τους (όπως φαίνεται στο σχήμα, οι ενεργητικές συνδέσεις εκκινούν από τα γονίδια A και B και προχωρούν μέχρι και το γονίδιο E, ενώ το γονίδιο I που

παρεμβάλλεται στη μέση του σχήματος συνιστά καταστάλη του γονιδίου D). Όπως προαναφέρθηκε, ένα οποιοδήποτε γονίδιο I καταστέλλει ένα άλλο γονίδιο D όταν υπάρχει ανασταλτική σύνδεση που ξεκινάει από το I με κατεύθυνση το D και το γονίδιο I είναι ενεργό. Όπως γνωρίζουμε, ένα γονίδιο όταν είναι ανεσταλμένο, δεν μπορεί να ενεργοποιηθεί και, επομένως, δεν μπορεί να μεταδώσει το σήμα.

Όπως φαίνεται στο κυτταρικό σχήμα που αποδίδεται Εικόνα 3, η ενεργοποίηση του γονιδίου A αναπόφευκτα οδηγεί στην ενεργοποίηση του γονιδίου C, το οποίο με τη σειρά του μεταδίδει το σήμα ενεργοποίησης στο γονίδιο D. Εφόσον το κατασταλτικό γονίδιο I δεν είναι ενεργό, δεν μπορεί να αναστείλει τη λειτουργία του γονιδίου D, με αποτέλεσμα το σήμα ενεργοποίησης που κατευθύνεται από τα γονίδια A και B προς τα γονίδια C, D και E να φτάνει εντέλει στον προορισμό του (γονίδιο E). Αν και η διαδικασία που εξηγήθηκε εδώ είναι μια από τις αναμενόμενες λειτουργίες του κυττάρου, εντούτοις το γονίδιο καταστολής I θα μπορούσε να είναι ενεργό και με την ανασταλτική του ιδιότητα να καταστείλει τη λειτουργία του γονιδίου D, με αποτέλεσμα το σήμα να μην φτάσει στον τελικό προορισμό (γονίδιο E). Οι αιτίες για την ενεργοποίηση των κατασταλτικών γονιδίων είναι πολλές, ωστόσο δεν αφορούν την παρούσα μελέτη και, συνεκδοχικά, δεν αναλύονται στα πλαίσια της εργασίας αυτής.

Έχοντας ως βάση τα βιολογικά δεδομένα σχετικά με την ομαλή λειτουργία του κυττάρου που εξηγήθηκαν πιο πάνω, εάν ο πειραματιστής μετά την εισαγωγή χημικής ουσίας παρατηρήσει την ενεργοποίηση του γονιδίου E, τότε αναμένεται να λάβει δύο πιθανές υποθέσεις ως επεξήγηση της παρατήρησης. Σύμφωνα με την πρώτη υπόθεση, η χημική ουσία δρα ανασταλτικά στο γονίδιο I, καταργώντας την ανασταλτική λειτουργία του και επιτρέποντας την ομαλή μεταγωγή του σήματος από το γονίδιο D στο E. Η δεύτερη υπόθεση ορίζει ότι η χημική ουσία δεν λειτουργεί ανασταλτικά στον καταστάλη I, αλλά αντίθετα έχει ενεργοποιητική λειτουργία στο γονίδιο D (που καταστέλλεται από το γονίδιο I) με αποτέλεσμα αυτό να ενεργοποιείται παρά την φυσιολογική καταστολή του από το γονίδιο I.

4.2 Το μοντέλο²⁵:

Τα εργαλεία του λογικού προγραμματισμού, όπως προαναφέρθηκε, παρέχουν στην τη δυνατότητα μοντελοποίησης βιολογικών λειτουργιών μέσα από τη αναπαράσταση των βιολογικών δεδομένων σε προτάσεις Λογικής Πρώτης Τάξης (*First-Order Logic*). Με αυτή τη μέθοδο, ο ερευνητής μπορεί να εισάγει τα δεδομένα ενός βιολογικού ζητήματος και να αντλήσει πιθανές υποθέσεις που αφορούν την αιτία του συγκεκριμένου ζητήματος. Η εξοικονόμηση που εγγυάται ένα πρόγραμμα απαγωγικού λογικού προγραμματισμού αφορά στην αναζήτηση των πιθανών αιτιών ή, αλλιώς, των υποθέσεων σχετικά με τον προβληματισμό του πειραματιστή. Στο παρόν κεφάλαιο, μεταφράζονται σε κανόνες προτασιακής λογικής συγκεκριμένα βιολογικά δεδομένα που αφορούν την πρωτεϊνική και γονιδιακή δομή των κυττάρων, με στόχο την έρευνα της αποτυχίας τερματισμού του κυτταρικού κύκλου ζωής και την ανάπτυξη της καρκινογένεσης.

Η παράμετρος *Phase*, που εμφανίζεται στο σύνολο των κατηγορημάτων του μοντέλου, αναφέρεται στα στάδια εξέλιξης των πειραμάτων που αφορούν την βιολογική έρευνα. Ως *phase-0* ορίστηκε, για τις ανάγκες της έρευνας, η κατάσταση του κυττάρου πριν τη χορήγηση της πειραματικής φαρμακευτικής ουσίας (με άλλα λόγια, η καρκινική κατάσταση του κυττάρου), ενώ *phase-1* ονομάστηκε η κατάσταση του κυττάρου μετά τη χορήγηση της πειραματικής φαρμακευτικής ουσίας (ή αλλιώς, η επίδραση του φαρμάκου).

Abducibles (κατηγορήματα υπόθεσης - απαγωγικοί παράγοντες): ως απαγωγικοί παράγοντες αντιμετωπίζονται τα δομικά στοιχεία που απαρτίζουν την επεξήγηση (το

²⁵Το πλήρες μοντέλο που αφορά το παρόν πόνημα αποτυπώνεται αναλυτικά στο Παράρτημα Α.

σύνολο των υποθέσεων) των πειραματικών δεδομένων που αναζητεί ο βιολόγος. Οι σχέσεις αυτές είναι άγνωστες αρχικά και αναζητούνται από τον πειραματιστή.

- `drug_induced(Phase, Drug, GeneX)` : Το κατηγορημα `drug_induced` χαρακτηρίζει τα γονίδια που ενεργοποιήθηκαν λόγω της απευθείας επίδρασης του φαρμάκου *Drug*²⁶ στο γονίδιο *GeneX*. Εφόσον διερευνάται η γνώση της επίδρασης του φάρμακου στα γονίδια και εφόσον δεν υπάρχουν κανόνες συμπερασματολογίας όπου αποδεικνύεται η ενεργοποίηση ενός γονιδίου, τότε το σύστημα δύναται να υποθέσει την ενεργοποίηση του γονιδίου αυτού με την καταχώρηση της υπόθεσης της ενεργοποίησης του από το φάρμακο στην επεξήγηση της επερώτησης.
- `drug_inhibited(Phase, Drug, GeneX)` : Το κατηγορημα `drug_inhibited/3` αφορά τα γονίδια για τα οποία διατυπώθηκε η υπόθεση ότι το φάρμακο επέδρασε αρνητικά προκαλώντας την αναστολή τους. Ομοίως με το `drug_induced/3`, στην περίπτωση που υπάρχει ανάγκη απόδειξης της αναστολής ενός γονιδίου, το οποίο δεν μπορεί να ανασταθεί διαμέσου κανονικών διαδικασιών (non-abductive resolution), τότε το σύστημα το υποθέτει ως ανεσταλμένο λόγω αρνητικής επίδρασης του φαρμάκου.
- `abnormally_induced(Phase, Reason, GeneX)` : ως κατηγορημα υπόθεσης αντιμετωπίζεται και το κατηγορημα `abnormally_induced/3` το οποίο αφορά τα γονίδια που ενεργοποιούνται αυθαίρετα είτε επειδή ανήκουν στην κατηγορία των oncogenes, είτε επειδή υπόκεινται σε γενική μετάλλαξη, είτε από άλλες άγνωστες αιτίες που οδηγούν στην αυθαίρετη ενεργοποίηση του γονιδίου. Ως πεδίο τιμών του *Reason* ορίζεται το

²⁶ Η μεταβλητή *Drug* αναφέρεται στο όνομα της φαρμακευτικής ουσίας που χορηγείται, στα πλαίσια της συυφασμένης με το σύστημά μας πειραματικής έρευνας.

σύνολο {oncogene, mutation, null}: Όπου το κάθε μέλος του συνόλου υποδηλώνει ότι το γονίδιο *GeneX* ενεργοποιήθηκε είτε επειδή ανήκει στα *oncogenes*, είτε επειδή έχει υποστεί μετάλλαξη, είτε λόγω άλλων άγνωστων συνθηκών αντίστοιχα.

- *abnormally_inhibited(Phase, Reason, GeneX)*: Όμοια με το *abnormally_induced/3*, το κατηγορήμα *abnormally_inhibited/3* αναφέρεται, αυτή τη φορά, στην αυθαίρετη απενεργοποίηση ενός γονιδίου είτε επειδή ανήκει στην κατηγορία των ογκοκαταστάλων (*tumor suppressor*), είτε επειδή έχει υποστεί μετάλλαξη (*mutation*), είτε εξαιτίας άλλων άγνωστων αιτιών.

Κανόνες συνεπαγωγής (entailment rules): εδώ δηλώνονται οι κανόνες που περιγράφουν την κατάσταση των γονιδίων αλλά και τη σχέση μεταξύ τους. Τα κατηγορήματα αυτά αποτελούν την *Θεωρία T* του τριαδικού απαγωγικού μοντέλου <T,H,IC> και συγκροτούν το λογικό πρόγραμμα όπως αυτό θα παρουσιαζόταν σε ένα μη-απαγωγικό λογικό πρόγραμμα. Τα κατηγορήματα αυτά, όχι μόνο αποτελούν τα δομικά στοιχεία της *Γνωσιακής Βάσης (KB)*²⁷ αλλά περιγράφουν και τους βιολογικούς κανόνες που αναφέρθηκαν στην πρώτη θεματική ενότητα του τρίτου κεφαλαίου(3.1) σε προτάσεις(*clauses*) Λογικής Πρώτης Τάξης.

- *reaction/1*²⁸: εδώ δίνεται η βασική γνώση που δηλώνει την ενεργητική σύνδεση μεταξύ γονιδίων. Ως *ενεργητική* ορίζεται η σύνδεση στην οποία το αρχικό γονίδιο έχει την δύναμη να ενεργοποιήσει το τελικό γονίδιο της

²⁷ Όπως αυτή ορίζεται στα πλαίσια του Λογικού Προγραμματισμού

²⁸ Οι πληροφορίες που αφορούν τις ενεργητικές συνδέσεις αντλούνται από το σύνολο της γνώσης της διεθνούς έρευνας σχετικά με τις ενδοκυτταρικές διεργασίες και τη μεταγωγή σήματος. Στο συγκεκριμένο μοντέλο χρησιμοποιήθηκαν οι συνδέσεις που διαγράφονται στις εικόνες του παραρτήματος Γ.

σύνδεσης. Η κατάσταση αυτή δίνεται ως γεγονός και δεν έχει κανόνες επαγωγής. Η σύνταξη του κατηγορήματος της ενεργητικής σύνδεσης διατηρεί την γενική μορφή: `Reaction(rct(FromGene,ToGene))`. Πολύ σημαντικό είναι το γεγονός ότι ο γράφος που δημιουργείται από τις διασυνδέσεις αυτές είναι κατευθυνόμενος και γι' αυτό τον λόγο δεν περιέχει βρόγχους.

- `inhibitor/2`: κατηγορημα που χρησιμοποιείται για να δηλώσει την ανασταλτική σχέση μεταξύ δύο γονιδίων. Δίνεται ως γεγονός, δεν διέπεται από κανόνες, όπως και το κατηγορημα `Reaction/1`, και η γενική μορφή του είναι η ακόλουθη: `inhibitor(OfGene,IsThisGene)`.
- `absent/1` – Με αυτό τον τύπο δηλώνονται τα γονίδια που απουσιάζουν από το κύτταρο που μελετάται²⁹. Στη *Γνωσιακή Βάση* (knowledge base) τα γονίδια αυτά αποδίδονται με την εξής μορφή: `absent(geneName)`. Το συγκεκριμένο κατηγορημα εισάγεται στο μοντέλο για να προσφέρει αργότερα την δυνατότητα στο χρήστη να δηλώνει δυναμικά (βλ. κεφάλαιο 4, 5) ποια γονίδια μπορούν να λάβουν μέρος στο πείραμα.
- `active(Phase, GeneX)`: εδώ δηλώνεται ο κανόνας ενεργοποίησης των ενεργών γονιδίων. Ένα γονίδιο είναι ενεργό, όταν αυτό *δεν απουσιάζει* (βλ. `absent/1`) από το κύτταρο που μελετάει ο βιολόγος και *έχει ενεργοποιηθεί ένα από τα συνδεδεμένα γονίδια του* (βλ. `normally_active/2`). Όταν ένα γονίδιο είναι ενεργό, τότε αυτό είναι σε θέση να ενεργοποιήσει οποιοδήποτε γονίδιο είναι συνδεδεμένο μαζί του με απλή σύνδεση (βλ. `reaction/1`). Εάν το γονίδιο αυτό είναι συνδεδεμένο με ανασταλτική

²⁹ Αυτό μπορεί να συμβαίνει για διάφορους λόγους. Είτε έπειτα από πειραματικές μετρήσεις, είτε επειδή χορηγείται κατασταλτική ουσία γνωστή για την δράση της, είτε επειδή ο ερευνητής έχει υποψία για την απουσία του γονιδίου, είτε ακόμη επειδή επιθυμεί να παρατηρήσει τι είδους αλλαγές θα επιφέρει η απουσία του γονιδίου. Περισσότερα για την πιθανή χρήση των κατηγορημάτων, αναφέρονται στο πέμπτο κεφάλαιο.

σύνδεση(βλ.*inhibitor/2*) τότε είναι σε θέση να απενεργοποιήσει οποιοδήποτε γονίδιο είναι συνδεδεμένο μαζί του μέσω της σύνδεσης αυτής. Όπως φαίνεται στον κανόνα (που περιγράφεται στο Παράρτημα Α) υπάρχει ακόμα ένα κατηγορημα (*normal_active/2*)³⁰ ως συνθήκη του ορισμού το οποίο σχετίζεται με την προτεραιότητα της αναστολής (Inhibition) έναντι της ενεργοποίησης(inducement) (βλ.*inhibited/2*).

- *normally_active(Phase,GeneX)*: με αυτό το κατηγορημα περιγράφονται οι συνθήκες κατά τις οποίες ένα γονίδιο καθίσταται ενεργό μέσω των φυσιολογικών οδών(με άλλα λόγια ενεργοποιείται μέσω της κανονικής λειτουργίας του όπως αυτή περιγράφεται στο κεφάλαιο 3.1). Όπως και στις προηγούμενες περιπτώσεις το γονίδιο επιβάλλεται να μην απουσιάζει από το κύτταρο (βλ.*absent/1*), να υπάρχει σύνδεση ενεργοποίησης (βλ.*reaction/1*) προς αυτό και το γονίδιο πηγής με το οποίο είναι συνδεδεμένο να είναι ενεργό (βλ.*active/2*).
- *inhibited(Phase, GeneX)*: ο κανόνας αυτός ορίζει την αναστολή ενός γονιδίου. Οι συνθήκες για να ισχύει ο κανόνας είναι να μην απουσιάζει το γονίδιο από το κύτταρο και να είναι συνδεδεμένο με ενεργό αναστάλητη (βλ.*normally_inhibited/2*). Ένα ανεσταλμένο γονίδιο, σε βιολογικούς όρους, έχει μειωμένη έκφραση (ή αλλιώς, δημιουργία) της υπεύθυνης πρωτεΐνης του, πράγμα το οποίο καθιστά το γονίδιο αυτό ανίκανο να ενεργοποιηθεί.³¹ Καθώς η γονιδιακή έκφραση (ενεργοποίηση) εξαρτάται

³⁰Το κατηγορημα αυτό είναι κατηγορημα υπόθεσης και η χρήση του εδώ είναι καθαρά για σκοπούς επιτάχυνσης του χρόνου υπολογισμού των επεξηγήσεων. Αντί αυτού, η εναλλακτική λύση είναι να προστεθεί ακόμη μια συνθήκη ($\backslash+$ *inhibited(Phase,GeneX)*) κατά την οποία ελέγχεται το παρόν γονίδιο να μην είναι ανεσταλμένο. Η άρνηση όμως κατά την απαγωγή είναι ιδιαίτερα χρονοβόρα, αφού για να ισχύει πρέπει να υπάρχει ερμηνεία(interpretation) τέτοια ώστε να μην υπάρχει τρόπος να ισχύει το *inhibited(GeneX)* κάτω από οποιαδήποτε απαγωγική υπόθεση. Αντί για αυτού, προστίθεται ο περιορισμός *ic :- normal_active(Phase,GeneX), inhibited(Phase,GeneX)*, όπου κατά την επικύρωση των επεξηγήσεων, διαγράφονται οι επεξηγήσεις που δεν είναι σύμφωνες με τον περιορισμό.

³¹ Βλέπε κεφάλαιο 3.1

από την μεταφορά των κωδικοποιημένων πληροφοριών (πρωτεϊνών) από το γονίδιο στα υπόλοιπα γονίδια που συνδέονται με αυτό, τότε η απουσία κωδικοποιημένων πληροφοριών έχει ως συνέπεια την μη ενεργοποίηση ή, διαφορετικά, αναστολή του γονιδίου. Όπως φαίνεται από την περιγραφή, η αναστολή έχει προτεραιότητα έναντι της ενεργοποίησης.

- *inactive*(Phase, GeneX): με τον όρο αυτό δηλώνονται τα ανενεργά γονίδια, ή αλλιώς τα γονίδια τα οποία *δεν είναι* ενεργά (η μη ενεργοποίηση δεν αποτελεί απαραίτητα αναστολή του γονιδίου). Συνοπτικά, ανενεργό γονίδιο χαρακτηρίζεται το γονίδιο το οποίο δεν έχει ενεργοποιηθεί (βλ. *active/2*, *normally_active/2*) και τουλάχιστο ένα γονίδιο από τους προγόνους³² του είναι ανεσταλμένο. Τα ανεσταλμένα γονίδια αυτά, αντιμετωπίζονται ως η αιτία της ανενεργής του κατάστασης (βλ. διάδοση ενεργοποίησης, τέταρτο κεφάλαιο). Με βιολογικούς όρους, η αναστολή του γονιδίου εξηγείται αν ιδωθούν οι γονιδιακές συνδέσεις ως μονοπάτια που συνδέουν τα γονίδια μεταξύ τους. Εάν ορισμένοι κόμβοι του γράφου δεν είναι ενεργοί, τότε οι κωδικοποιημένες πληροφορίες που μεταφέρονται στο γονίδιο από τα υπόλοιπα γονίδια που συνδέονται μαζί του είναι αισθητά μειωμένες, με αποτέλεσμα να μην τροφοδοτείται το γονίδιο επαρκώς για να ενεργοποιηθεί. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση μετάδοσης του σήματος, το οποίο μεταφέρεται μέσα από τα μονοπάτια από το ένα γονίδιο στο άλλο.

³² Ως πρόγονος ενός γονιδίου A ονομάζεται το γονίδιο B τέτοιο ώστε το γονίδιο B με μία ή περισσότερες συνεχόμενες συνδέσεις να μπορεί να καταλήξει στο γονίδιο A ακολουθώντας τις κατευθυνόμενες ακμές του γράφου που περιγράφουν τα μονοπάτια ενεργοποίησης ή απενεργοποίησης.

Απαγωγικοί κανόνες: εδώ περιγράφονται οι ορισμοί των απαγωγικών κανόνων υπόθεσης ως εναλλακτικοί τρόποι επαλήθευσης των κανόνων επαγωγής που προαναφέρθηκαν στο προηγούμενο υποκεφάλαιο. Οι εναλλακτικοί αυτοί κανόνες που περιέχουν κατηγορήματα υπόθεσης είναι σημασιολογικά ίδιοι με τους αντίστοιχους κανόνες επαγωγής. Επίσης αναγράφονται και οι *συνθήκες ελέγχου*³³, οι οποίες επιτρέπουν στον χρήστη του μοντέλου να περιορίσει την απαγωγική υπόθεση στα στοιχεία που τον ενδιαφέρουν.

- *active/2, inhibited/2*: Με τους τύπους αυτούς δηλώνονται οι εναλλακτικοί κανόνες ενεργοποίησης ή αναστολής, αντίστοιχα, ενός γονιδίου (βλ. *active/2, inhibited/2* που προαναφέρθηκαν): με το πρώτο κατηγορήμα δηλώνεται η ενεργή κατάσταση ενός γονιδίου, ενώ με το δεύτερο η ανεσταλμένη κατάσταση ενός γονιδίου.

Το γονίδιο, πέρα από την ενεργοποίηση στα πλαίσια της κανονικής του λειτουργίας, έχει δύο επιπρόσθετους τρόπους ενεργοποίησης:

1. *active(Phase, GeneX)* :-
mutated_induced(Phase, GeneX): με το κατηγορήμα αυτό δηλώνουμε τον κανόνα με τον οποίο το γονίδιο ενεργοποιείται λόγω μετάλλαξης.
2. *active(Phase, GeneX)* :-
externally_induced(Phase, GeneX): με το κατηγορήμα αυτό δηλώνεται ο κανόνας με τον οποίο το γονίδιο

³³ Κατά την διαδικασία απαγωγής, ορισμένες συνθήκες ελέγχου έχουν προστεθεί για να δίνεται η δυνατότητα περιορισμού του πεδίου ορισμού των γονιδίων στα οποία δύναται να λάβουν μέρος στις επεξηγήσεις.

δύναται να ενεργοποιηθεί λόγω εξωτερικών παραγόντων όπως επεξηγούνται παρακάτω.

Αντίστοιχα προς τις πιο πάνω περιπτώσεις ενεργοποίησης ενός γονιδίου, δίνονται στο απαγωγικό πρόγραμμα της παρούσας μελέτης και οι ανάλογοι τύποι αναστολής των γονιδίων *inhibited/2*:

1. *mutated_inhibited(Phase,GeneX)*: όμοια με το κατηγορήμα *mutated_induced/2*, το *mutated_inhibited/2* δηλώνει την αναστολή λόγω μετάλλαξης.
2. *externally_inhibited(Phase,GeneX)*: όπως το κατηγορήμα *externally_induced/2*, το *externally_inhibited/2* δηλώνει την αναστολή της λειτουργίας γονιδίων εξαιτίας εξωτερικών παραγόντων όπως εξηγείται πιο κάτω.

Πιο αναλυτικά, το *mutated_induced/2* για να ισχύει, πρέπει το γονίδιο να έχει μαρκαριστεί ως *possible_mutation* (βλ. *possible_mutation/1*) και να διατυπωθεί η υπόθεση ότι το γονίδιο *GeneX* μεταλλάχτηκε, ενεργοποιώντας ταυτόχρονα τον εαυτό του.

Αντίστοιχα, στην περίπτωση του κατηγορήματος *mutated_inhibited/2* πρέπει να ισχύουν τα ίδια με μόνη διαφορά το γεγονός ότι υποθέτουμε πως το γονίδιο μετά την μετάλλαξη του ανέστειλε την λειτουργία του.

- Επίδραση φαρμάκου: εκτός του βασικού τρόπου ενεργοποίησης του γονιδίου, ένα γονίδιο μπορεί να ενεργοποιηθεί εάν υποθέσουμε ότι το φάρμακο επέδρασε πάνω του. Παρόμοια, μπορούμε να υποθέσουμε ότι επέδρασε και αρνητικά, αναστέλλοντας τη λειτουργία του γονιδίου.

Επομένως διατυπώνονται δύο κανόνες σχετικά με την επίδραση της φαρμακευτικής ουσίας: Ο πρώτος αφορά την ενεργοποίηση (activation) του γονιδίου, ενώ ο δεύτερος, την αναστολή του (inhibition). Οι κανόνες αυτοί παρουσιάζουν αναλογία μεταξύ τους, καθώς και οι δύο αρχικά επιβεβαιώνουν την ύπαρξη φαρμάκου (βλ. *exists/2*) στην παρούσα φάση (Phase), και έπειτα ότι το φάρμακο μπορεί να δράσει στο συγκεκριμένο γονίδιο είτε θετικά ενεργοποιώντας αυτό, είτε αρνητικά αναστέλλοντας το (βλ. *possible_drug_effect/3*). Στο τέλος υπάρχει το κατηγορηματικό υπόθεσης *drug_induced/3* και *drug_inhibited/3* αντίστοιχα για ενεργοποίηση και αναστολή της λειτουργίας του γονιδίου. Η σύνδεση των κανόνων αυτών με την υπόλοιπη Θεωρία γίνεται με επέκταση του κανόνα *externally_induced(Phase, GeneX)*, και *externally_inhibited(Phase, GeneX)* για ενεργοποίηση και αναστολή αντίστοιχα³⁴.

- *oncogene/tumor suppressor*: εκτός από τις επιδράσεις του φαρμάκου, από το σύστημα αναμένεται και η διατύπωση της πιθανότητας να ενεργοποιήθηκε κάποιο ογκογονίδιο (Oncogene) ή να αναστάλθηκε κάποιος ογκοκαταστάτης (tumor suppressor). Με την τακτική που αναφέρθηκε πιο πάνω εισάγονται ακόμα δύο κανόνες που αναλαμβάνουν τις δύο αυτές περιπτώσεις. Για την ενεργοποίηση των ογκογονιδίων εισάγεται ο κανόνας *oncogene_activated/2* ο οποίος ελέγχει εάν το γονίδιο, που εξετάζεται είναι ενεργό (βλ. *active/2*) και εάν ανήκει στην ομάδα των ογκογονιδίων και μετέπειτα προσθέτει στις επεξηγήσεις την υπόθεση: *abnormally_induced(Phase, oncogene, GeneX)*. Όμοια υπάρχει και κανόνας που ελέγχει εάν ένα γονίδιο είναι ογκοκαταστάτης (tumor

³⁴ Η πρόσθεση νέων κανόνων ενεργοποίησης *inducement_rule/X* και απενεργοποίησης *inhibition_rule/X* γίνεται με μια απλή πρόσθεση μιας επέκτασης του κανόνα *externally_induced/2*.

suppressor). Στην τελευταία περίπτωση καταχωρείται στην επεξήγηση ότι η λειτουργία αυτού του γονιδίου έχει ανασταλεί κατά τρόπο μη κανονικό: `abnormally_inhibited(Phase,tumor_suppressor,GeneX)`.

- `abnormal`: η τελική εναλλακτική οδός για την αυθαίρετη ενεργοποίηση ενός γονιδίου (και αντίστοιχα την απενεργοποίηση του) είναι το κατηγορημα `abnormal/3`, το οποίο, ως συμπλήρωμα της ομάδας ογκογονιδίων/ογκοκαταστάτων, ελέγχει αν το προς μελέτη γονίδιο δεν ανήκει στην προαναφερθείσα ομάδα και επομένως υποθέτει (προσθέτει στις επεξηγήσεις) το λεκτικό `abnormally_induced(Phase,null,GeneX)` που αφορά την ενεργοποίηση του ή το λεκτικό `abnormally_inhibited(Phase,null,GeneX)` σε συσχέτισμό με την αναστολή.
- `possible_drug_effect(Drug,Effect,GeneX)`: δηλώνεται στο σημείο αυτό η δυνατότητα ενός φαρμάκου (*Drug*) να λειτουργήσει ως παράγοντας ενεργοποίησης ή αναστολής με βάση την παράμετρο *Effect* (ως πεδίο τιμών του *effect* ορίζονται, εδώ, το *induce* και το *inhibit*) στο γονίδιο *GeneX*. Πρέπει να σημειωθεί ότι αν το *GeneX* δηλωθεί ως ελεύθερη μεταβλητή, τότε το φάρμακο δύναται να δράσει σε όλα τα γονίδια.
- `possible_mutation(GeneX)`: κατηγορημα που υποδηλώνει ότι το *GeneX* μπορεί να θεωρηθεί ότι μεταλλάχτηκε με αποτέλεσμα να ενεργοποιήθηκε ή να αναστάλθηκε η λειτουργία του.
- `exists(Phase,Drug)`: με το κατηγορημα αυτό δηλώνεται η παρουσία ή απουσία του φαρμάκου *Drug* στη δεδομένη φάση του πειράματος. Με αυτό το κατηγορημα έχουμε την δυνατότητα να περιορίζουμε την δράση του φαρμάκου. Ο περιορισμός δεν αφορά μόνο σε ποια γονίδια μπορεί να

δράσει το φάρμακο (βλ. *possible_drug_effect/3*) αλλά και σε ποια φάση (*Phase*). Σύμφωνα με τις προδιαγραφές που αναφερθήκαν στο κεφάλαιο 3.1 (και που αφορούν την παρουσία φαρμάκου μόνο κατά την φάση 1), το κατηγορημα αυτό εμφανίζεται μια φορά με το λεκτικό `exist(phase1,drugName)`.

Περιορισμοί (Integrity constraints): για να επιτευχθεί η ομαλή λειτουργία του συστήματος αλλά και η αξιόπιστη διεξαγωγή των βιολογικών πειραμάτων που συνθέτουν τη βάση της παρούσας μελέτης, αξίζει να σημειωθούν ορισμένες διευκρινιστικές παρατηρήσεις, οι οποίες τίθενται, εδώ, ως βασικοί νόμοι του συστήματος που εγγυούνται την εγκυρότητα των επεξηγήσεων.

- Κανένα φάρμακο σε καμία φάση δεν επιτρέπεται να ενεργοποιήσει και ταυτόχρονα να αναστείλει την λειτουργία του ίδιου γονιδίου.

```
ic :- drug_induced(Phase,Drug,Gene),
      drug_inhibited(Phase,Drug,Gene).
```

Κώδικας 2 – Περιορισμός ταυτόχρονης ενεργοποίησης και απενεργοποίησης από φάρμακο

- Η απόπτωσης δεν μπορεί να ενεργοποιηθεί ή να ανασταλεί από το φάρμακο ή άλλο εξωγενή παράγοντα.

```
ic :- drug_induced(Phase,Drug,apoptosis).
```

Κώδικας 3 – Περιορισμός αυθαίρετης ενεργοποίησης της απόπτωσης

- Ένα γονίδιο δεν μπορεί να είναι ενεργό και ταυτόχρονα ανεσταλμένο.

```
ic :- active(Phase,GeneX),inactive(Phase,GeneX).
```

Κώδικας 4 – Περιορισμός ταυτόχρονης (φυσιολογικής) ενεργοποίησης και απενεργοποίησης του ίδιου γονιδίου

Με βάση τους παραπάνω κανόνες³⁵ δύναται οποιοσδήποτε κλινικός ερευνητής ή βιολόγος να διεξάγει διαμέσου της χρήσης του υπολογιστή πειράματα, να συγκεντρώσει πιθανές λύσεις ή αιτίες βιολογικών προβληματισμών και να επαληθεύσει στην πράξη τα αποτελέσματα που θα παρέχει το σύστημα. Η λογική πάνω στην οποία δομήθηκε το μοντέλο μπορεί εύκολα να επεκταθεί ώστε να καλύπτει τις ανάγκες ποικίλων πειραματικών ερευνών, μεταφράζοντας σε κανόνες προτασιακής λογικής πολλά άλλα βιολογικά δεδομένα.

³⁵ Οι κανόνες αυτοί εντοπίζονται στο Παράρτημα Α και Β, όπου περιγράφονται οι κανόνες του Απαγωγικού Λογικού Μοντέλου και τα βιολογικά δεδομένα που απαρτίζουν τη βάση του πλήρους μοντέλου αντίστοιχα.

Κεφάλαιο 5: Το σύστημα “ApoCelSys”

Η συναφής με το σύστημα μας επιστημονική έρευνα επικεντρώθηκε κατά κύριο λόγο στην καταγραφή και εξέταση της γονιδιακής κατάστασης εντός του κυττάρου και στην φαρμακευτική επίδραση σε αυτή. Πιο συγκεκριμένα, διερευνήθηκαν οι όροι μεταγωγής του σήματος για τερματισμό του κυτταρικού κύκλου ζωής και για πραγμάτωση της διεργασίας της απόπτωσης. Το σύστημα “ApoCelSys” σχεδιάστηκε με βάση συγκεκριμένη πειραματική δραστηριότητα³⁶ η οποία εξετάζει τη φαρμακευτική επίδραση σε καρκινικά κύτταρα με στόχο την ενεργοποίηση της βασικής λειτουργίας (essential function) της απόπτωσης. Προσομοιώνει ένα κύτταρο που διαθέτει μόνο την βασική λειτουργία της απόπτωσης, και δημιουργεί υποθέσεις ως προς την επίδραση του φαρμάκου στα γονίδια του, τέτοιες ώστε ο φαινότυπος³⁷ που παράγεται να ταιριάζει με τις παρατηρήσεις του βιολόγου.

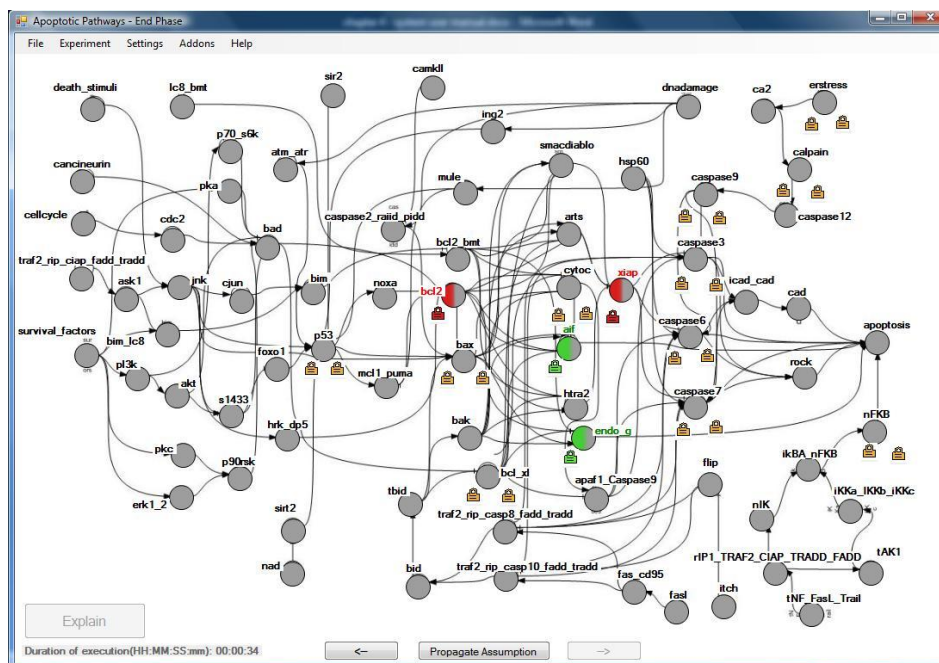
Αρχικά, ο χρήστης του συστήματος εισάγει τα δεδομένα που σχετίζονται με την έκφραση του κυττάρου (φαινότυπος) που μελετάει. Ακολούθως εκτελείται η παραγόμενη επερώτηση με βάση την είσοδο του χρήστη και ως αποτέλεσμα επιστρέφονται τα αποτελέσματα (επεξηγήσεις/ υποθέσεις). Από το σύστημα αναμένεται το σύνολο των στοιχείων στα οποία υποθετικά επέδρασε το φάρμακο.

Στο Παράρτημα Β (background.pl) μοντελοποιούνται τα ενεργοποιητικά (βλ. *Reaction/1* κεφ.3.2) και ανασταλτικά (βλ. *Inhibitor/2* κεφ.3.2) μονοπάτια που συνδέουν τα γονίδια μεταξύ τους. Η σύνδεση των γονιδίων παρουσιάζεται σε ένα γραφικό περιβάλλον το οποίο όχι μόνο προσδίδει ευκολία στην εισαγωγή και

³⁶ Η συγκεκριμένη πειραματική δραστηριότητα αφορά την διερεύνηση της μεταγωγής σήματος με στόχο την πραγμάτωση του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου.

³⁷ Ως φαινότυπος ορίζεται η πρωτεϊνική και γονιδιακή έκφραση του κυττάρου.

παρουσίαση των δεδομένων, αλλά επιπρόσθετα προμηθεύει τα απαραίτητα εργαλεία για την επεξεργασία αυτών (η μοντελοποιημένη μορφή των ενεργοποιητικών ή ανασταλτικών συνδέσεων μεταξύ των γονιδίων παρουσιάζεται στην Εικόνα 4).



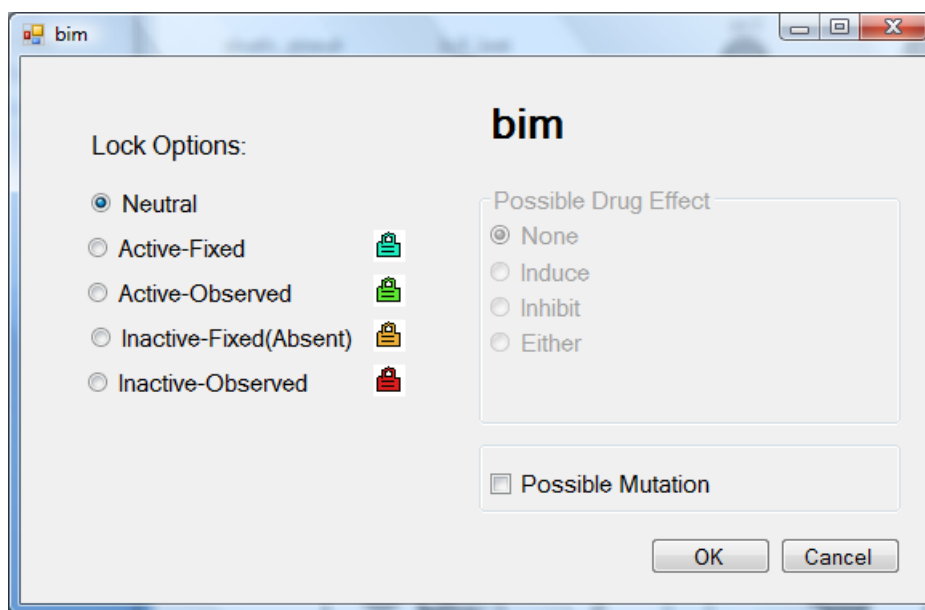
Εικόνα 4 – Αναπαράσταση μονοπατιών, και μενού εντολών.

Στην Εικόνα 4 αποτυπώνεται η αναπαράσταση όλων των μονοπατιών που αφορούν τα πειράματα σχετικά με την απόπτωση και τη φαρμακευτική επίδραση που στοχεύει στην ενεργοποίησή της.

Κάθε κύκλος συνιστά ένα στοιχείο (γονίδιο, πρωτεΐνη, απόπτωση ή σήμα συνόρου) και κάθε ακμή δηλώνει μια σύνδεση μεταξύ των στοιχείων αυτών. Οι ακμές χωρίζονται σε δύο κατηγορίες: τις ενεργητικές (βλ. *Reaction/1* κεφ.3.2) που λειτουργούν θετικά ενεργοποιώντας τη λειτουργία του συνδεδεμένου γονιδίου και τις ανασταλτικές (βλ. *Inhibitor/2* κεφ.3.2) που λειτουργούν κατά τρόπο ανασταλτικό ως προς τη λειτουργία του συνδεδεμένου γονιδίου. Ο χρήστης του συστήματος μπορεί

να ξεχωρίσει τις ενεργητικές από τις ανασταλτικές ακμές μέσα από την κατάληξη της ακμής με τόξο(->) ή με κάθετη γραμμή (-|) αντίστοιχα.

Ακολούθως ο χρήστης του συστήματος, για να εισάγει τις απαραίτητες πληροφορίες που αφορούν την έρευνά του³⁸, πιέζει (click) το στοιχείο που τον ενδιαφέρει, και έπειτα επιλέγει την κατάσταση στην οποία θέλει να θέσει το επιλεγμένο στοιχείο από το παράθυρο που εμφανίζεται στη συνέχεια (βλ. Εικόνα 5): οι επιλογές σχετικά με την κατάσταση στην οποία επιθυμεί ο χρήστης να θέσει το επιλεγμένο στοιχείο απαριθμούνται στο κεφάλαιο 3.2. και συνοψίζονται ακολούθως ως εξής: Active-observed, inhibited-observed, active-fixed, inhibited-fixed (absent) ή neutral.



Εικόνα 5 - Παράθυρο επιλογών κατάστασης γονιδίου. Στην αριστερή πλευρά του παραθύρου, βρίσκονται οι επιλογές που χαρακτηρίζουν την κατάσταση του επιλεγμένου γονιδίου, ενώ στη δεξιά πλευρά, εντοπίζουμε τις επιλογές που αφορούν τον τρόπο με τον οποίο δύναται το φάρμακο να επιδράσει στο επιλεγμένο γονίδιο. Αξίζει να σημειωθεί πως οι επιλογές που αφορούν την επίδραση του φαρμάκου ενεργοποιούνται μόνο στα πλαίσια της φάσης χορήγησης της φαρμακευτικής ουσίας, δηλαδή κατά την φάση 1 (βλ. κεφάλαιο 3).

³⁸ Τα δεδομένα που εισάγει ο χρήστης είναι οι συνθήκες (βιολογικές πληροφορίες που γνωρίζει ότι ισχύουν) και οι παρατηρήσεις (βιολογικές πληροφορίες που εξήγαγε από τις πειραματικές δραστηριότητες του).

Η κάθε επιλογή αποτελείται από δύο συνιστώσες και η σημασιολογία των συνδυασμών εξηγείται στον ακόλουθο πίνακα 3 και το αποτέλεσμα της αναφορικά με την αλλαγή που θα αποφέρει στο σύστημα καταγράφεται στον πίνακα 3:

Πίνακας 3 - Σημασιολογία επιλεγμένης κατάστασης γονιδίου

Status \ metadata	Fixed	Observed
Active	Το επιλεγμένο στοιχείο, είναι ενεργό, αλλά καταγράφεται ως υπάρχουσα γνώση	Το επιλεγμένο στοιχείο είναι ενεργό αλλά αυτό πρέπει να επεξηγηθεί από το σύστημα.
Inhibited	Το στοιχείο αυτό δεν υπάρχει στο κύτταρο. (βλ. absent/1)	Το επιλεγμένο στοιχείο, είναι ανενεργό αλλά αυτό πρέπει να επεξηγηθεί από το σύστημα.
Neutral	Η προεπιλεγμένη επιλογή. Τα στοιχεία που είναι neutral δεν είναι ούτε ενεργά ούτε ανενεργά μέχρι αποδείξεως της κατάστασης τους από το σύστημα, εάν και εφόσον αυτή θα ζητηθεί.	

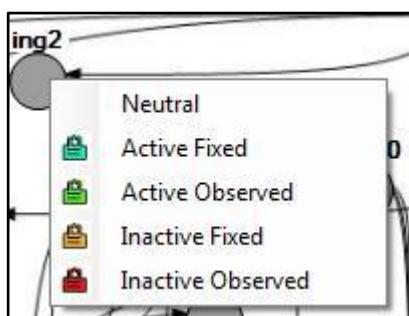
Ο κάθε συνδυασμός αντιστοιχεί και με ένα λεκτικό που είτε θα καταγραφεί στην KB, είτε θα αποτελεί στοιχείο της επερώτησης όπως αυτό φαίνεται στον πίνακα 4:

Πίνακας 4 - Επίδραση επιλεγμένης κατάστασης γονιδίου ως προς τις αλλαγές που επιφέρει στο μοντέλο

Status \ metadata	Fixed	Observed
Active	KB(normally_active(Phase,GeneX))	query(active(Phase,GeneX))
Inhibited	KB(absent(GeneX))	query(inactive(Phase,GeneX))
Neutral	NA	

Ένας διαφορετικός τρόπος εισαγωγής των δεδομένων είναι με δεξί κλικ επάνω στο στοιχείο που ενδιαφέρει τον χρήστη και ακολούθως επιλογή από την λίστα που παρουσιάζεται (Εικόνα 6) της κατάστασης στην οποία επιθυμεί να θέσει το προεπιλεγμένο στοιχείο. Επιπλέον, όπως φαίνεται και στη δεξιά πλευρά του παραθύρου επιλογών κατάστασης γονιδίου (βλ. Εικόνα 5), στον χρήστη δίνονται οι τέσσερις δυνατές επιλογές που αφορούν τον περιορισμό της επίδρασης του φαρμάκου στο γονίδιο που επιλέχθηκε. Οι επιλογές αυτές επιτρέπουν την





συγκεκριμενοποίηση της επίδρασης της ουσίας ως εξής: είτε επιτρέπεται η ενεργοποίηση του γονιδίου (θετική επίδραση της ουσίας), είτε η αναστολή του γονιδίου (αρνητική επίδραση), είτε δεν επιτρέπεται αλλοίωση της λειτουργίας του από το φάρμακο, είτε επιτρέπονται εξίσου η θετική ή αρνητική επίδραση της ουσίας (either: ενεργοποίηση ή αναστολή του γονιδίου).



Εικόνα 6 - Σύντομο μενού επιλογών

Μετά από κάθε εισαγωγή, ο χάρτης των στοιχείων επανασχεδιάζεται και δίπλα από κάθε στοιχείο εμφανίζεται μια κλειδαριά (μπλε, κίτρινη, πράσινη, κόκκινη) που αντιστοιχεί στην επιλεγμένη κατάσταση, όπως φαίνεται στον πίνακα 5:

Πίνακας 5 - Οπτική παρουσίαση επιλεγμένης κατάστασης γονιδίου



Status \ metadata	Fixed	Observed
Active	 (μπλε)	 (Πράσινη)
Inhibited	 (κίτρινη)	 (Κόκκινη)
Neutral	NA	

Επιπρόσθετα, δίνεται η δυνατότητα στο χρήστη να αποθηκεύσει οποιοσδήποτε ρυθμίσεις έχει κάνει ο ίδιος μέσω του μενού File->save και να πραγματοποιήσει ανάκληση αυτών μέσω του File->Open.

Με την εισαγωγή των δεδομένων (πραγματικών ή/και υποθετικών) του πειράματος, προστίθενται τα γεγονότα στην Γνωσιακή Βάση και διαμορφώνεται μια επερώτηση³⁹ η οποία αποτελείται από όλες τις *Observed* (βλ. πίνακα3) καταστάσεις που έθεσε ο χρήστης. Έπειτα, αποστέλλεται η επερώτηση στον *prolog server* και απαντάται από το *A-system*. Για να αποσταλεί η επερώτηση, ο χρήστης πιέζει το κουμπί “*Explain*” (βλ. Εικόνα 4). Η απάντηση που θα λάβει ο χρήστης θα είναι είτε αρνητική («όχι»), είτε θετική. Το συμπέρασμα που εξάγεται από την αρνητική απάντηση είναι διπτό: είτε συνιστά απουσία υποθέσεων που να είναι συνεπείς με τις πληροφορίες που διατίθενται στην KB, είτε η ίδια η KB να είναι ασυνεπής (*not consistent*). Στην αντίθετη περίπτωση, κατά την οποία ο χρήστης θα λάβει ως απάντηση το σύνολο των επεξηγήσεων (υποθέσεων) που επαληθεύουν την ερώτηση, το σύστημα θα παρουσιάσει στον χρήστη την πρώτη από αυτές. Ωστόσο έχει την δυνατότητα να επιλέξει και να μελετήσει στην οθόνη οποιαδήποτε από τις παραγόμενες επεξηγήσεις.

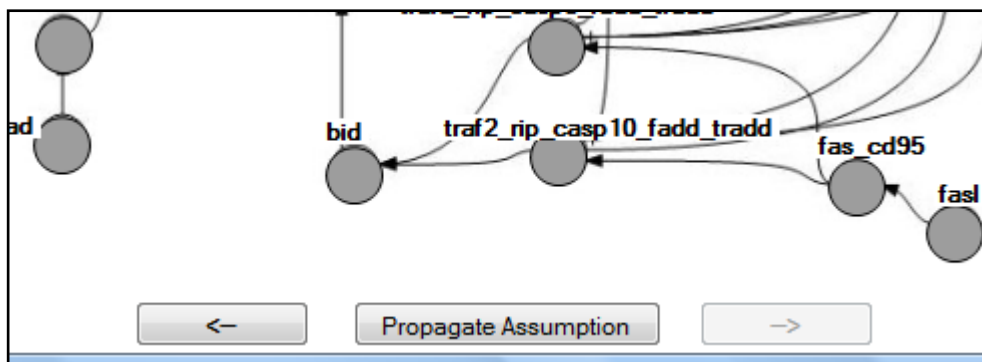
Αρχικά, τα ονόματα (*labels*) των γονιδίων που συμμετέχουν στην τρέχουσα επεξήγηση χρωματίζονται ανάλογα με την επίδραση που είχε σε αυτά το φάρμακο, ενώ στη συνέχεια λαμβάνει ανάλογο χρώμα και το σχήμα του γονιδίου (βλ. πίνακα6).

Πίνακας 6 - Οπτική παρουσίαση επίδρασης του φαρμάκου σε συγκεκριμένα γονίδια

Επίδραση φαρμάκου \ τοποθεσία χρωματισμού	Χρώμα ονόματος	Χρώμα γονιδίου	σχήματος
Drug induced	Πράσινο	 (αριστερό ημισφαίριο πράσινο)	
Drug inhibited	Κόκκινο	 (αριστερό ημισφαίριο κόκκινο)	

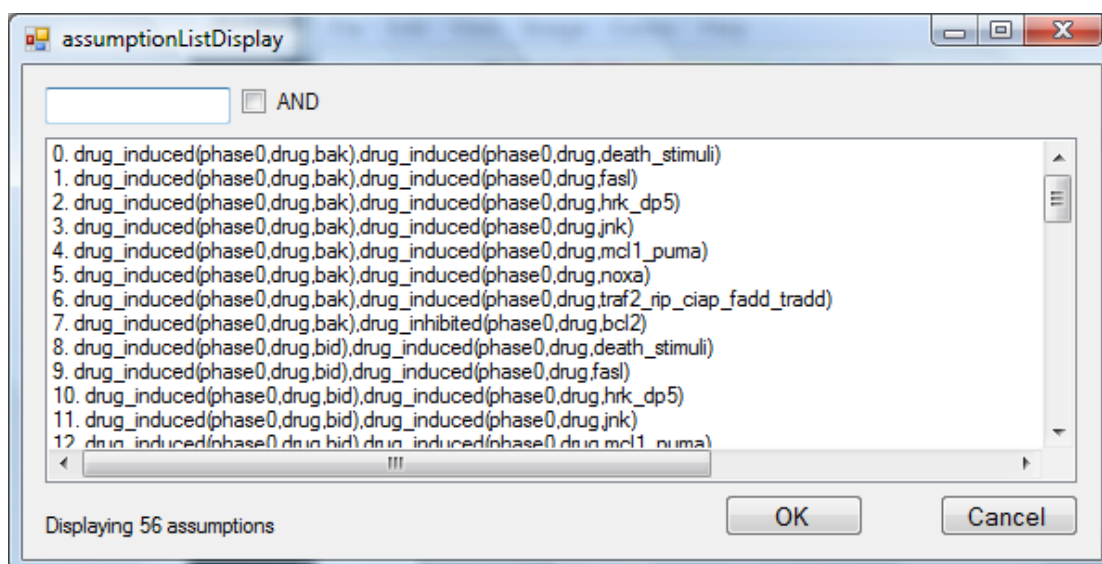
³⁹ Η παραγωγή της επερώτησης ακολουθεί τον πίνακα 4 σύμφωνα με τον οποίο η κάθε πληροφορία που χαρακτηρίζεται *observed* εισάγεται ως λεκτικό στην επερώτηση (*query*).

Στην συνέχεια ο χρήστης μπορεί να περιηγηθεί στις εναλλακτικές επεξηγήσεις με την χρήση των πλήκτρων δεξιά και αριστερά (βλ. Εικόνα 7) ή με την χρήση του δεξιού και αριστερού βέλους που βρίσκονται στην αριθμοπινακίδα (Numpad).



Εικόνα 7 - Πλήκτρα περιήγησης των επεξηγήσεων και διάδοσης της επίδρασης του φάρμακου

Εκτός των προαναφερθέντων τρόπων περιήγησης στις επεξηγήσεις, ο χρήστης έχει στην διάθεση του ένα πιο ισχυρό εργαλείο παρουσίασης του συνόλου των επεξηγήσεων το οποίο μπορεί να φέρει μέσω του μενού Experiment ->Display Explanations και το οποίο φαίνεται στην Εικόνα 8:



Εικόνα 8 - Παράθυρο παρουσίασης, φιλτραρίσματος και επιλογής των επεξηγήσεων

Στο παραπάνω παράθυρο δίνεται σε μορφή λίστας το σύνολο των επεξηγήσεων. Όπως διακρίνεται στην εικόνα, η κάθε γραμμή συνιστά και μία επεξήγηση. Παρουσιάζεται, εδώ, στο σύνολό της η κάθε πληροφορία της επεξήγησης, η οποία ακολουθεί τους συντακτικούς κανόνες που παρουσιάζονται παρακάτω:

Επεξήγηση ::= Αύξων_Αριθμός_επεξήγησης.Υπόθεση
 Υπόθεση ::= drug_induced(Phase,DrugName, GeneX).[Υπόθεση]
 Υπόθεση ::= drug_inhibited(Phase,DrugName, GeneX).[Υπόθεση]

Κώδικας 5- Σύνταξη Επεξηγήσεων

Εκτός από τον αριθμό των στοιχείων της εκάστοτε λίστας των επεξηγήσεων που φαίνεται στο κάτω σημείο του παραθύρου, ο χρήστης εντοπίζει και ένα πεδίο εισαγωγής φίλτρου. Στο πεδίο αυτό εισάγεται, από τον χρήστη, το κείμενο που ο ίδιος επιθυμεί να περιλαμβάνεται στις επεξηγήσεις που παρουσιάζονται στην λίστα. Υπάρχει δυνατότητα εισαγωγής περισσότερων λέξεων φιλτραρίσματος, οι οποίες ωστόσο πρέπει να διαχωρίζονται μεταξύ τους με κόμμα (.). Σε αυτή την περίπτωση, το φιλτράρισμα εφαρμόζει τον λογικό τελεστή Ή (OR)⁴⁰ για αναζήτηση των επεξηγήσεων που είναι συμβατές με το φίλτρο αναζήτησης. Εάν ο χρήστης επιθυμεί η αναζήτηση πολλαπλών όρων να γίνει με χρήση του λογικού τελεστή ΚΑΙ (AND)⁴¹, τότε επιλέγει το πλαίσιο ελέγχου (checkbox) AND που βρίσκεται δεξιά του πεδίου εισαγωγής φίλτρου. Εκτός του λογικού AND και του λογικού OR, εάν μπροστά από οποιοδήποτε όρο προστεθεί το πρόθεμα “-” (NOT), τότε το φιλτράρισμα θα γίνει με γνώμονα την απουσία του όρου αυτού στην επεξήγηση. Πρέπει να διευκρινιστεί ότι το λογικό ΟΧΙ (–) μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με τα λογικά AND ή OR.

⁴⁰ Ο λογικός τελεστής Ή (OR) ορίζει ότι οι επεξηγήσεις που ζητούνται από τον χρήστη πρέπει να περιλαμβάνουν τουλάχιστον ένα από τους όρους τους οποίους εισάγει στο πεδίο εισαγωγής φίλτρου.

⁴¹ Ο λογικός τελεστής ΚΑΙ (AND) ορίζει ότι οι επεξηγήσεις που ζητούνται από τον χρήστη πρέπει να περιλαμβάνουν όλους τους όρους τους οποίους εισάγει στο πεδίο εισαγωγής φίλτρου.

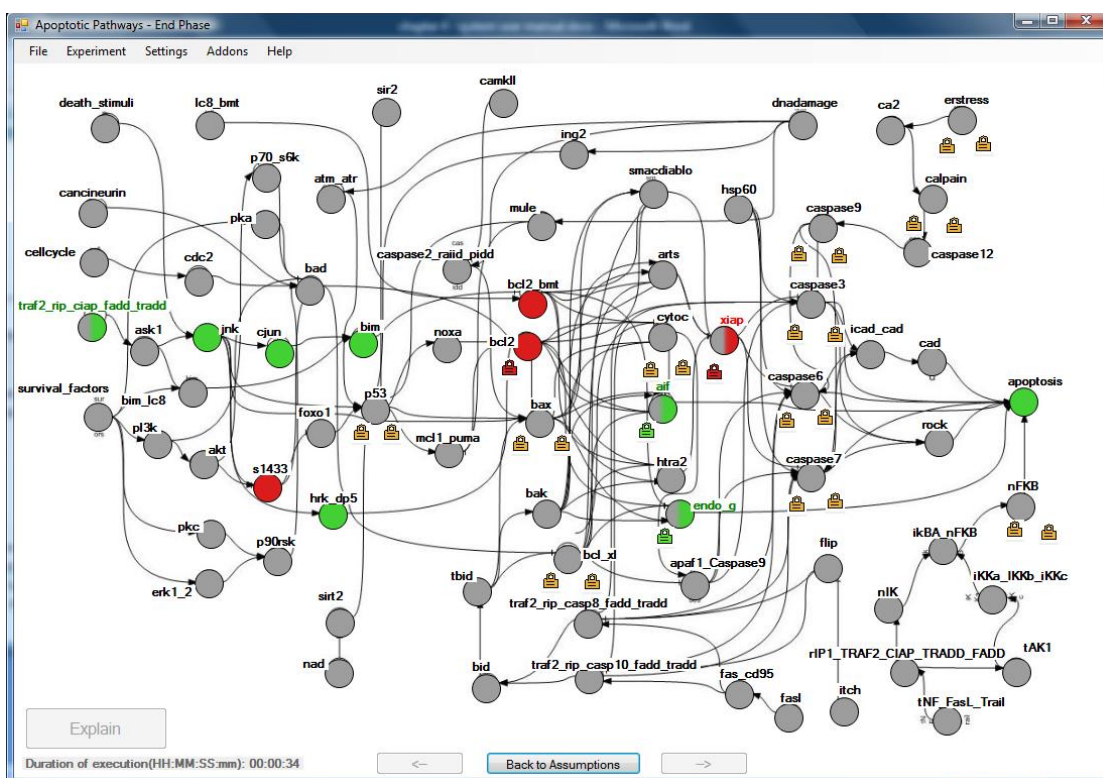
Στη περίπτωση που ο χρήστης εντοπίζει μια επεξήγηση που τον ενδιαφέρει, μπορεί να κάνει διπλό κλικ και να την προβάλει στον γράφο των γονιδίων όπως προαναφέρθηκε.

Εκτός από την απλή προβολή της επιλεγμένης επεξήγησης, το σύστημα διατηρεί τη δυνατότητα να παρουσιάσει όχι μόνο την αρχική επίδραση του φαρμάκου στα επιλεγμένα γονίδια, αλλά και τη διάδοσή του στο υπόλοιπο κύτταρο (βλ. Εικόνα 9). Με αυτό τον τρόπο παρέχεται μια άλλη οπτική, σύμφωνα με την οποία δίνονται σε θεωρητικό επίπεδο οι αλλαγές που ενδέχεται να προκληθούν στο κύτταρο εξαιτίας της εισαγωγής του πειραματικού φαρμάκου, διαγράφοντας έτσι τα μονοπάτια που ακολουθεί η μεταγωγή του σήματος. Αυτή η δυνατότητα παρέχει στον χρήστη του συστήματος νέα δεδομένα, τα οποία μπορεί να επαληθεύσει στην πράξη μέσα από πειράματα και με αυτό τον τρόπο να κατευθύνει την έρευνά του με περισσότερη ακρίβεια και στοχοπροσήλωση, αποφεύγοντας παράλληλα τη διεξαγωγή αχρείαστων πειραμάτων.

Στο μοντέλο μας, η προβολή της διάδοσης ακολουθεί παρόμοιους τρόπους παρουσίασης, με την προβολή της επεξήγησης. Αναλυτικότερα, τα χρώματα των ονομάτων (labels) των γονιδίων στα οποία επέδρασε το φάρμακο διατηρούν τις ίδιες αποχρώσεις όπως στον πίνακα 6. Η διαφοροποίηση φαίνεται στον χρωματισμό του σχήματος του κάθε γονιδίου, όπως διακρίνεται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 7 - Οπτική παρουσίαση επίδρασης φάρμακου και διάδοσης του σήματος ενεργοποίησης

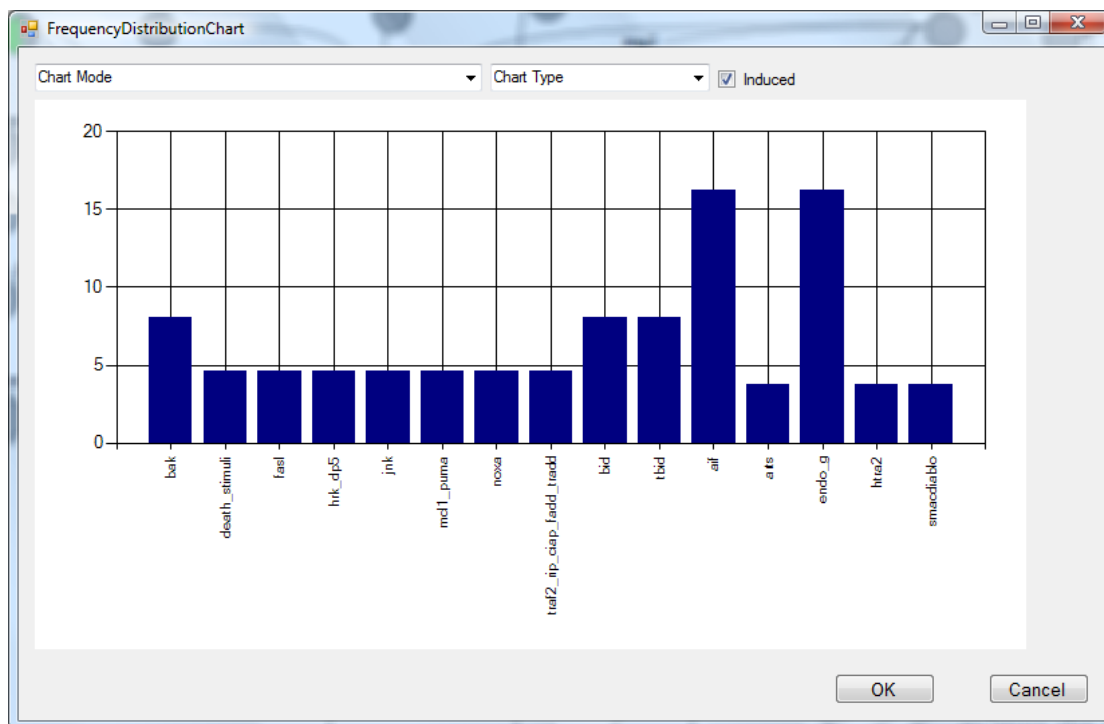
Κατάσταση τοποθεσία χρωματισμού	Χρώμα ονόματος	Χρώμα σχήματος γονιδίου
Drug induced	Πράσινο	 (δεξί ημισφαίριο πράσινο χρώμα)
Drug inhibited	Κόκκινο	 (δεξί ημισφαίριο κόκκινο χρώμα)
Normally active	Μαύρο	 (πράσινο χρώμα)
Normally inhibited	Μαύρο	 (κόκκινο χρώμα)
neutral	Μαύρο	 (γκρίζο χρώμα)



Εικόνα 9 - Διάδοση σήματος ενεργοποίησης / απενεργοποίησης

Λόγω των πολλαπλών πιθανών επεξηγήσεων, δημιουργήθηκαν εργαλεία που στοχεύουν στην αποτελεσματικότερη ανάλυση των επεξηγήσεων στο σύνολο τους. Ένα βασικό εργαλείο που διατίθεται στον χρήστη για αποτελεσματικότερη επισκόπηση του συνόλου των επεξηγήσεων είναι η δυνατότητα για δημιουργία

γραφικών παραστάσεων με βάση τα αποτελέσματα που λαμβάνει μετά από κάθε επερώτηση. Ακολουθώντας την διαδρομή Addons ->Distribution Charts, ο χρήστης ανοίγει το παράθυρο⁴² που φαίνεται στην ακόλουθη εικόνα:



Εικόνα 10 - Παράθυρο Κατανομής Συχνότητας

Στο παράθυρο αυτό προβάλλεται η προεπιλεγμένη γραφική παράσταση με τίτλο: «Κατανομή Συχνότητας – αντιστρόφως ανάλογη του μήκους της επεξήγησης». Στην διάθεση του ο χρήστης έχει να επιλέξει μεταξύ μια γκάμας τριών γραφικών παραστάσεων και διαφόρων άλλων τρόπων αναπαράστασης της επιλεγμένης γραφικής (bar, pie, column, κτλ). Σημαντική παρατήρηση εδώ είναι ότι οι γραφικές παραστάσεις που παρουσιάζονται λαμβάνουν υπόψη τους όλες τις επεξηγήσεις και δίνουν μια γενικότερη οπτική σε όλο το φάσμα των υποθέσεων. Πρέπει να σημειωθεί πως κατά την δημιουργία της γραφικής παράστασης λαμβάνονται υπόψη μόνο τα γονίδια που έχουν ενεργοποιηθεί από το φάρμακο. Ωστόσο, εάν ο χρήστης επιθυμεί

⁴² Τα δεδομένα στα οποία βασίζεται η γραφική παράσταση διαφέρουν από πείραμα σε πείραμα, επομένως η γραφική παράσταση που παρουσιάζεται στην Εικόνα 10 ενδέχεται να διαφέρει αναλόγως του πειράματος.

να δημιουργήσει γραφική παράσταση με τα ανεσταλμένα γονίδια, απλώς πρέπει να καθαρίσει (uncheck) την επιλογή του πλαισίου ελέγχου με όνομα "Induced".

Η απλούστερη γραφική παράσταση που διατίθεται στον χρήστη είναι η *κατανομή συχνότητας*, η οποία παρουσιάζει τη συχνότητα με την οποία εμφανίζεται η υπόθεση ενεργοποίησης κάθε γονιδίου ανάμεσα σε όλες τις επεξηγήσεις.

Η επόμενη γραφική παράσταση που έχει ο χρήστης στη διάθεσή του είναι η «*Κατανομή Συχνότητας – αντιστρόφως ανάλογη του μήκους της επεξήγησης*», που συνιστά συγχρόνως και την προεπιλεγμένη παράσταση. Ο υπολογισμός του σκορ κάθε υπόθεσης ορίζεται με τον ακόλουθο τύπο:

$$\sum \frac{(\text{παρουσία γονιδίου? } 1:0)}{\text{αριθμός υποθέσεων στην επεξήγηση}}$$

Όπως φαίνεται παραπάνω, αυτή η γραφική παράσταση δίνει λιγότερη βαρύτητα στις υποθέσεις που εντοπίζονται σε επεξηγήσεις όπου απαιτείται μεγαλύτερος αριθμός υποθέσεων ώστε να ισχύει η επερώτηση. Στη σχετική γραφική παράσταση οι υποθέσεις που εμφανίζονται σε μικρότερου μήκους επεξηγήσεις ή, αλλιώς, απαιτούν μικρότερο αριθμό υποστηρικτικών υποθέσεων παρουσιάζονται με μεγαλύτερο σκορ.

Στην τρίτη γραφική παράσταση («*Ανάστροφη κατανομή συχνότητας*»), η αναπαράσταση των υποθέσεων γίνεται με βάση την εμφάνιση της εκάστοτε υπόθεσης ανάμεσα σε όλες τις επεξηγήσεις. Ο ακόλουθος μαθηματικός τύπος υπολογίζει την εμφάνιση αυτή:

Σεμφανίσεων της υπόθεση στις επεξηγήσεις

Σε αυτή την περίπτωση, δίνεται βαρύτητα στις υποθέσεις, οι οποίες δεν εμφανίζονται συχνά στο σύνολο των επεξηγήσεων. Εδώ, οι υποθέσεις με τη μεγαλύτερη συχνότητα εμφανίζονται στη γραφική παράσταση με χαμηλότερο σκορ.

Αξίζει να αναφερθεί ότι το σύστημα δίνει στο χρήστη τη δυνατότητα να διατηρεί ανοικτά όσα παράθυρα θέλει (παράθυρα γραφικών παραστάσεων ή λιστών επεξηγήσεων ή ακόμη και παράθυρα με στοιχεία προηγούμενων επερωτήσεων). Αυτό δίνει στο χρήστη την ευκαιρία να πραγματοποιήσει συγκρίσεις μεταξύ περασμένων επερωτήσεων και να διερευνήσει πιο αποτελεσματικά τις παρατηρήσεις που προκύπτουν μέσω της σύγκρισης των επερωτήσεων.

Κεφάλαιο 6: Διάφορες χρήσεις του συστήματος.

Οι δυνατότητες του συστήματος, οι οποίες περιγράφονται στο προηγούμενο κεφάλαιο της παρούσης μελέτης, δίνουν στον χρήστη την ευκαιρία να χρησιμοποιήσει το σύστημα με ποικίλους τρόπους. Οι χρήσεις του συστήματος χαρακτηρίζονται πολυάριθμες, καθώς παρέχει μεταξύ άλλων τη δυνατότητα για διεξαγωγή *in silico* πειραμάτων, ή για επαλήθευση υποθέσεων που αφορούν την επίδραση του φαρμάκου.

Μια από τις βασικότερες χρήσεις που προσφέρει το σύστημα αποτελούν, όπως προαναφέρθηκε, τα *in silico* πειράματα, που συνιστούν στην ουσία πειράματα τα οποία εκτελούνται με τη βοήθεια υπολογιστή⁴³. Τα πλεονεκτήματα τέτοιου είδους χρήσεων χαρακτηρίζονται σημαντικά. Όχι μόνο δίνεται η δυνατότητα για διεξαγωγή μέγιστου αριθμού πειραμάτων σε λιγότερο χρόνο, αλλά συγχρόνως αποφεύγεται η εκτέλεση περιττών πειραμάτων η οποία θα είχε ως συνέπεια αχρείαστα κόστη. Οι παρατηρήσεις που παρέχει το σύστημα στους χρήστες δεν παρουσιάζουν χάσματα ως προς την ορθότητά τους, καθώς στηρίζονται σε αξιόπιστα ορισμένους κανόνες⁴⁴. Με αυτό τον τρόπο τα συμπεράσματα που παρέχονται δεν βασίζονται σε πειραματικές διαδικασίες που είναι ευάλωτες σε σφάλματα.

Η μεθοδολογία των *in silico* πειραμάτων δίνει στον χρήστη την ευκαιρία να κατευθύνει τη σκέψη του και να προσανατολιστεί ακριβέστερα προς πειραματικές διαδικασίες στις οποίες οι πιθανότητες επιτυχίας είναι αυξημένες. Επιπρόσθετα, η ταχύτητα που

⁴³ Ο όρος *in silico* χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά στα τέλη της δεκαετίας του 1980 από τον Pedro Miramontes για να περιγραφούν τα βιολογικά πειράματα που προσομοιώθηκαν σε υπολογιστή, στα πλαίσια μιας έρευνας σχετικά με τα κυτταρικά αυτόματα και τη μοριακή εξέλιξη.

⁴⁴ Η ορθότητα των αποτελεσμάτων που παρέχει το σύστημα συνιστά αναπόφευκτη απόρροια της ορθότητας των κανόνων πάνω στους οποίους δομείται το σύστημα.

χαρακτηρίζει τη διεξαγωγή αυτού του είδους των πειραμάτων αλλά και η δυνατότητα για συνολική θεώρηση των βιολογικών δεδομένων οδηγεί τον χρήστη σε νέες πιθανές υποθέσεις τις οποίες ενδεχομένως να μην λάμβανε υπόψη του ο ίδιος.

Η ευελιξία που προσφέρει το σύστημα επιτρέπει στον χρήστη να επαναδιατυπώνει τα βιολογικά δεδομένα πάνω στα οποία κτίζονται οι απαντήσεις που δίνονται, ώστε το σύστημα να ακολουθεί παράλληλα τις νέες εξελίξεις στον βιολογικό τομέα. Πιο συγκεκριμένα, εάν τα αποτελέσματα που έχει ο ίδιος στην κατοχή του δεν ταυτίζονται με τα αποτελέσματα που παρέχει το σύστημα ως λύσεις, εγείρονται νέα ερωτήματα σχετικά με τη γνώση (δεδομένα) που ο ίδιος διοχέτευσε στο σύστημα. Η δομή του συγκεκριμένου συστήματος δίνει την ευκαιρία στους χρήστες να προσθέτουν στις ήδη υπάρχουσες πληροφορίες νέα δεδομένα με αποτέλεσμα να εξαλείφονται τα χάσματα ανάμεσα στις σύγχρονες βιολογικές εξελίξεις και τη λειτουργία του συστήματος.

Μια άλλη προσέγγιση την οποία μπορεί να ακολουθήσει ο χρήστης στα πλαίσια χρήσης του συστήματος είναι η εισαγωγή στο σύστημα των δικών του υποθέσεων και η εξέταση ομοιοτήτων και διαφορών ανάμεσα σε αυτές και στις επεξηγήσεις που λαμβάνει για επερωτήσεις των οποίων τα αποτελέσματα έχει στην κατοχή του. Αυτή η τακτική δίνει την ευκαιρία στον βιολόγο που χρησιμοποιεί το σύστημα να εισάγει δικές του υποθέσεις και ακολούθως να τις διερευνήσει με σκοπό να διαπιστωθεί η εγκυρότητά τους.

Η μελέτη νέας άγνωστης, ανεξερεύνητης πληροφορίας γίνεται με μια απλή καταχώρηση της πληροφορίας στην ΚΒ, και ακολούθως μια σειρά από δοκιμές με γνωστά δεδομένα μπορούν να φανερώσουν εάν η υπόθεση του χρήστη ισχύει. Ο

βιολόγος με αυτό τον τρόπο μπορεί να ελέγξει για παράδειγμα εάν υπάρχει νέα σύνδεση μεταξύ γονιδίων χρησιμοποιώντας το λεκτικό Reaction/1, ή μια αναστολή με το λεκτικό inhibitor/2 και όχι μόνο. Μπορεί ακόμη να δώσει δικούς του περιορισμούς, όπως για παράδειγμα τον ακόλουθο:

```
Ic :- drug_induced(_, drug, bcl2), drug_induced(_, drug, bax)
```

Όπως διατυπώνεται στον παραπάνω περιορισμό, δεν επιτρέπει ο χρήστης στο απαγωγικό σύστημα να υποθέσει ότι το bax και το bcl2 ενεργοποιήθηκαν ταυτόχρονα από το φάρμακο drug (ίσως επειδή ο ερευνητής εξετάζει μια υπόθεση του, στην οποία τα δύο αυτά γονίδια ανήκουν σε μια οικογένεια γονιδίων όπου μόνο ένα μπορεί να ενεργοποιηθεί ταυτόχρονα από την ομάδα αυτή). Άλλο ένα παράδειγμα περιορισμού που μπορεί να τεθεί στο σύστημα από τον χρήστη είναι η απαγόρευση της ενεργοποίησης του γονιδίου ikBA_nFKB αν δεν είναι ενεργά τα nIK και iKKa_IKKb_iKKc – περιορισμός που τίθεται σε ισχύ με την εισαγωγή του ακόλουθου τύπου:

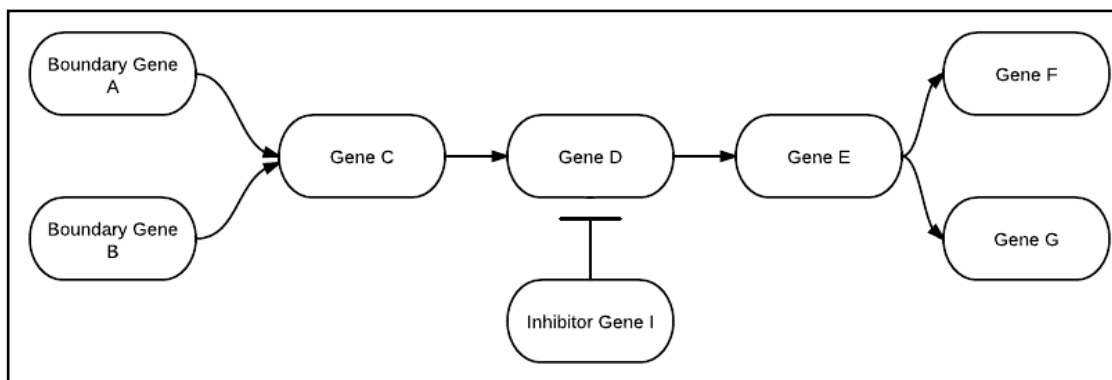
```
Ic :- active(_, ikBA_nFKB), \+active(_, nIK), \+active(_, iKKa_IKKb_iKKc)
```

Μια επιπρόσθετη προσέγγιση την οποία δύναται να ακολουθήσει ο χρήστης στα πλαίσια χρήσης του συστήματος είναι η σύγκριση των δικών του πειραματικών αποτελεσμάτων με τα αποτελέσματα που παρέχει το σύστημα για τις ίδιες επερωτήσεις. Μια πιθανή ταύτιση των αποτελεσμάτων του πειραματιστή με τα αποτελέσματα του συστήματος συνιστά ένα είδος επαλήθευσης.

Κεφάλαιο 7: Επαλήθευση της εγκυρότητας του “ApoCelSys”

Βασική αρχή ανάπτυξης κάθε συστήματος συνιστά δίχως άλλο η επαλήθευση της λειτουργίας του και η εγκυρότητα των αποτελεσμάτων που αυτό παρέχει στον χρήστη. Όσο αφορά το δικό μας σύστημα, η διαδικασία της επιβεβαίωσης της ομαλής εκτέλεσης αλλά και της ορθότητας των επεξηγήσεων, χωρίστηκε σε δύο φάσεις. Αρχικά, εξετάστηκαν οι κανόνες που συναπαρτίζουν το μοντέλο, πάνω στους οποίους θεμελιώθηκε το σύστημα “ApoCelSys”. Στη συνέχεια δοκιμάστηκε, στο σύνολο του, το μοντέλο μαζί με το γραφικό περιβάλλον με χρήση πραγματικών δεδομένων, εν παρουσία ειδημόνων βιολόγων, με στόχο την επιβεβαίωση τόσο των επεξηγήσεων όσο και της χρησιμότητας του συστήματος.

Κατά την διαδικασία επιβεβαίωσης της εγκυρότητας των κατηγορημάτων του μοντέλου, καθώς και της δυνατότητας για συνδυασμό μεταξύ τους, χρησιμοποιήθηκε ανδρείκελο (Dummy) γνωστικό υπόβαθρο. Η χρήση τεχνητού γνωστικού υποβάθρου, επιτρέπει την εύκολη δημιουργία πολύπλοκων σεναρίων και την δημιουργία συνδυασμών για έλεγχο διαφόρων (σπάνιων) περιπτώσεων που *ενδεχομένως και να μην ευσταθούν* στην πραγματικότητα. Ο έλεγχος εγκυρότητας αυτών των ενδεχόμενων *μη πραγματικών* περιπτώσεων κρίνεται απαραίτητος για να θεωρηθεί το μοντέλο πλήρες. Είναι σημαντικό να εξεταστούν όχι μόνο οι αναμενόμενες περιπτώσεις αλλά και οι περιπτώσεις που χαρακτηρίζονται σπάνιες ή ακόμη και απίθανες, καθώς αποτελούν εξίσου σημαντικό στοιχείο μέτρησης της εγκυρότητας του μοντέλου. Χρησιμοποιώντας τα κατηγορήματα που αναφέρονται στο τέταρτο κεφάλαιο της εργασίας, το γνωστικό υπόβαθρο που δημιουργήσαμε αντικατοπτρίζει τις διασυνδέσεις που απεικονίζονται στην Εικόνα 11:



Εικόνα 11 - Τεχνητό Γνωστικό Υπόβαθρο για σκοπούς επαλήθευσης

Όπως φαίνεται στο σχήμα, συνδυάζονται ενεργητικές, αλλά και ανασταλτικές συνδέσεις μεταξύ των γονιδίων, καθώς και συνδέσεις one-to-many και many-to-one με σκοπό την εξέταση των περισσότερων δυνατών συνδυασμών.

Επειδή κύριος στόχος του μοντέλου αποτελεί η εξέταση της επίδρασης της συνθετικής ουσίας που εισάγεται στο κύτταρο, αρχικά επικεντρωθήκαμε στον έλεγχο της λειτουργίας του μοντέλου με μοναδική δυνατότητα υπόθεσης την επίδραση της ουσίας και όχι άλλων αιτιών αποτυχίας της απόπτωσης, όπως για παράδειγμα η μετάλλαξη. Στην συνέχεια παρουσιάζονται οι έλεγχοι αυτοί, πάνω στους οποίους στηρίχτηκαν και οι έλεγχοι των υπολοίπων παρομοίων λειτουργιών του μοντέλου.

Οι βασικοί έλεγχοι ορθότητας είναι απλοί και σκοπό έχουν να εξετάσουν τους βασικούς κανόνες του μοντέλου, όπως η μετάδοση σήματος, η εμπλοκή του σήματος από ανασταλτικούς παράγοντες και η επίδραση εξωγενούς ουσίας για ανατροπή των αναμενόμενων αποτελεσμάτων. Οι διάφορες λειτουργίες του μοντέλου έχουν ελεγχθεί και σε ποικίλες φτιαχτές τοπολογίες, όπως αυτές διαγράφονται στην Εικόνα 11.

Αρχικά, ελέγχθηκε η μετάδοση σήματος χωρίς την δυνατότητα επίδρασης της ουσίας. Δόθηκε ως δεδομένο η ενεργή κατάσταση⁴⁵ του γονιδίου C, και ζητήθηκε η παρατήρηση της ενεργής κατάστασης του γονιδίου E. Όπως αναμενόταν, η

⁴⁵ Ως ενεργή κατάσταση μπορεί να τεθεί τόσο το active/2 αλλά και το normally_active/2. Η διαφορά έγκειται στην δυνατότητα ανασταλτικής επίδρασης της χημικής ουσίας στο γονίδιο στην περίπτωση του normally_active/2 εν αντιθέσει με το active/2.

επεξήγηση ήταν το κενό σύνολο, ερμηνευμένη ως έλλειψη ανάγκης για επαγωγή οποιασδήποτε υπόθεσης, καθώς η επερώτηση ευσταθεί χωρίς υποστηρικτικές υποθέσεις. Ακολούθως, εξετάσθηκε η αρχή της μη-αντίφασης⁴⁶, με την επερώτηση της ανενεργής κατάστασης του E, με αποτέλεσμα την αρνητική απάντηση, δηλαδή την έλλειψη οποιαδήποτε συνόλου υποθέσεων H, τέτοιο ώστε η διάζευξη του H και της Γνωσιακής βάσης να έχουν ως λογική συνεπαγωγή την παρατήρηση. Με σκοπό την εξέταση των λεκτικών υπόθεσης της επίδρασης της ουσίας στο κύτταρο, εκτελέσθηκαν οι ίδιες επερωτήσεις επιτρέποντας την επίδραση του φάρμακου σε οποιοδήποτε γονίδιο κριθεί απαραίτητο. Τα αποτελέσματα για την πρώτη επερώτηση, όπου παρατηρήθηκε το γονίδιο E ενεργό, ήταν τα ίδια (δηλαδή το κενό σύνολο) μιας και ως το σύνολο των επεξηγήσεων που λαμβάνονται είναι το ελάχιστο μοντέλο Herbrand (minimal Herbrand model) και το κενό σύνολο είναι υποσύνολο όλων των συνόλων. Κατά την εκτέλεση όμως της επερώτησης στην οποία η κατάσταση του γονιδίου E είναι ανεσταλμένη, τα αποτελέσματα διαφέρουν. Καταρχήν λαμβάνονται τέσσερις επεξηγήσεις, στις οποίες οι τρεις αφορούν την αναστολή της λειτουργίας των γονιδίων C, D, E από τη χημική ουσία. Η ανεσταλμένη λειτουργία ενός από τα τρία γονίδια αυτά είναι αρκετή για να εμποδίσει την μετάδοση του σήματος που αρχικοποιείται στο γονίδιο C. Η τέταρτη επεξήγηση αφορά την ενεργοποίηση του γονιδίου I, το οποίο συνδέεται με ανασταλτική σύνδεση με το γονίδιο D καταργώντας τη λειτουργία του και διακόπτοντας την μετάδοση του σήματος από το C στο E διαμέσου του D.

Κατόπιν, για να ελεγχθεί η πολλαπλή σύνδεση των γονιδίων μεταξύ τους, είτε όταν αυτή είναι σύνδεση δύο γονιδίων προς ένα (many-to-one), είτε όταν είναι ένα γονίδιο προς δύο (one-to-many), δημιουργήθηκαν επερωτήσεις ενεργοποίησης του γονιδίου C χωρίς κανένα δεδομένο, και επερωτήσεις ενεργοποίησης των γονιδίων F, G ξεχωριστά. Για επαλήθευση των συνδέσεων 2-προς-1, η επερώτηση ενεργοποίησης

⁴⁶ Σε κάθε πρόταση P, αποκλείεται να ισχύει ότι και P είναι αληθής, και «όχι-P» είναι αληθής.

του γονιδίου C αποσκοπούσε στο να ελέγξει εάν το μοντέλο μπορεί να εξάγει επεξηγήσεις στις οποίες ένα μόνο γονίδιο είναι αρκετό για να ενεργοποιήσει το επόμενο στην σειρά του μονοπατιού, γονίδιο αλλά και να επιβεβαιωθεί η ελαχιστοποίηση (minimality) των επεξηγήσεων, καθώς η ενεργοποίηση των γονιδίων A και B δεν είναι ελάχιστη. Η επεξήγηση που δόθηκε από το μοντέλο, ήταν είτε η ενεργοποίηση του γονιδίου A, είτε του γονιδίου B, είτε του ίδιου γονιδίου C, όπου επαληθεύονται οι προαναφερθέντες ισχυρισμοί. Κάθε σύνδεση 1-προς-2, χαρακτηρίζεται από το γεγονός ότι το γονίδιο-πηγή, το γονίδιο δηλαδή που έχει ενεργοποιητική σύνδεση προς δύο άλλα γονίδια, ενεργοποιεί και τα δύο γονίδια χωρίς διάκριση, εκτός αν ένα από αυτά ή και τα δύο αναστέλλονται από τρίτους παράγοντες. Για έλεγχο της υπόθεσης αυτής, δημιουργήθηκε μια σειρά από τρεις επερωτήσεις όπου και οι τρεις αποσκοπούσαν στην ίδια απάντηση. Κατά τις δύο επερωτήσεις, παρατηρείται η ενεργοποίηση των γονιδίων F και G ξεχωριστά, ενώ στην τρίτη παρατηρείται η εκτέλεση της επερωτήσεως της ενεργοποίησης και των δύο ταυτόχρονα. Ενώ η σειρά εκτέλεσης δεν έχει σημασία, το αποτέλεσμα παραμένει το ίδιο και στις τρεις επερωτήσεις με όλους τους δυνατούς συνδυασμούς που καταλήγουν στην ενεργοποίηση του γονιδίου E.⁴⁷

Οι παραπάνω εκτελέσεις έχουν στόχο την εγκυρότητα των επεξηγήσεων που παρέχονται από το σύστημα, ώστε να διασφαλιστεί η ορθότητα στη λειτουργία του “AroCelSys”. Ωστόσο, δεν αποτελούν τις μοναδικές πράξεις ελέγχου της εγκυρότητας του μοντέλου και, συνακόλουθα, του συστήματός μας. Προχωρήσαμε σε σειρά εκτέλεσης ποικίλων άλλων επερωτήσεων σε πολυπλοκότερες αναπαραστάσεις του κυττάρου με στόχο τον έλεγχο εγκυρότητας όλων των κατηγορημάτων και των δεδομένων που συναπαρτίζουν το σύστημα. Αξίζει, εδώ, να σημειωθεί ότι ο ανώτατος έλεγχος πραγματοποιείται στο ολοκληρωμένο σύστημα με πραγματικά δεδομένα, όπως αυτό παρουσιάζεται στη συνέχεια.

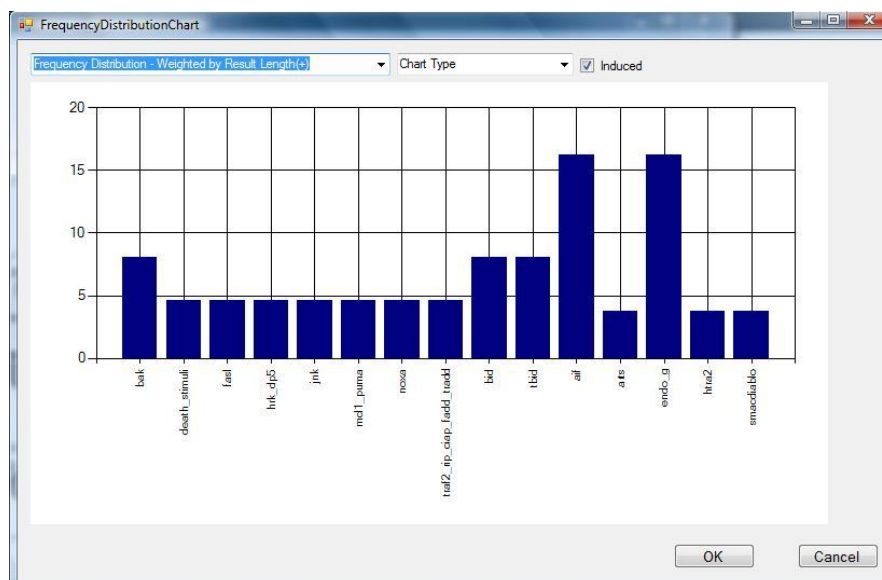
⁴⁷ Στην περίπτωση ελέγχου των συνδέσεων 1-προς-2, στις επεξηγήσεις, δόθηκαν και οι υποθέσεις ενεργοποίησης του ίδιου γονιδίου που παρουσιαζόταν στην επερωτήση.

Ο χρήστης εισάγει τα αρχικά δεδομένα όπως αυτά αναγράφονται στον πίνακα 8:

Πίνακας 8- Δεδομένα Πραγματικού Πειράματος

Absent	Inactive-Observed	Active-Observed
p53	bcl2	aif
bax	xiap	endo_g
bcl_xl		
cytoc		
caspase 3,6,7,9		
calpain		
erstress		
nFKB		

Μετά τον τερματισμό της επερώτησης και την επιστροφή της επεξήγησης, δημιουργείται ο γράφος *Κατανομή Συχνότητας – αντιστρόφως ανάλογη του μήκους της επεξήγησης* που εμφανίζεται στην Εικόνα 12, όπου παρουσιάζονται τα γονίδια στα οποία έδρασε ενεργητικά η ουσία.



Εικόνα 12 - Κατανομή Συχνότητας – αντιστρόφως ανάλογη του μήκους της επεξήγησης

Άμεσα ξεχωρίζουν, όπως φαίνεται στην γραφική παράσταση, τα γονίδια *aif* και *endo_g*. Να σημειωθεί πως η ενεργοποίηση των δύο αυτών γονιδίων, αποτελεί απαίτηση της επερώτησης που παράγεται από τα δεδομένα του πειράματος.

Στο αμέσως επόμενο ποσοστιαίο σημείο, βρίσκονται οι πρωτεΐνες bid, tbid και bak. Αξιοσημείωτο και πολύ σημαντικό είναι το γεγονός, που επιβεβαιώνει και επιτυγχάνει τον αυτοσκοπό του συστήματος, η επαλήθευση, από ειδήμονα βιολόγο, της ενεργοποίησης του bak, καθώς και η ένδειξη ενδιαφέροντος ως προς την μελέτη των bid και tbid.

Κατόπιν διατυπώθηκε ερώτημα σχετικά με την απουσία του γονιδίου foxo1⁴⁸. Η απάντηση στο ερώτημα έγκειται στο γεγονός της παράλειψης της εισαγωγής μιας σύνδεσης που δεν αναγραφόταν στα αρχικά δεδομένα που δόθηκαν κατά την δημιουργία του συστήματος. Καθότι ο εμπλουτισμός της γνώσης του συστήματος πραγματοποιείται σε ελάχιστο χρόνο και χωρίς ιδιαίτερη προσπάθεια⁴⁹, αφότου πραγματοποιήθηκε ξανά εκτέλεση της επερώτησης με τη νέα γνώση, στα αποτελέσματα παρουσιάστηκε και η υπόθεση ενεργοποίησης του γονιδίου foxo1.

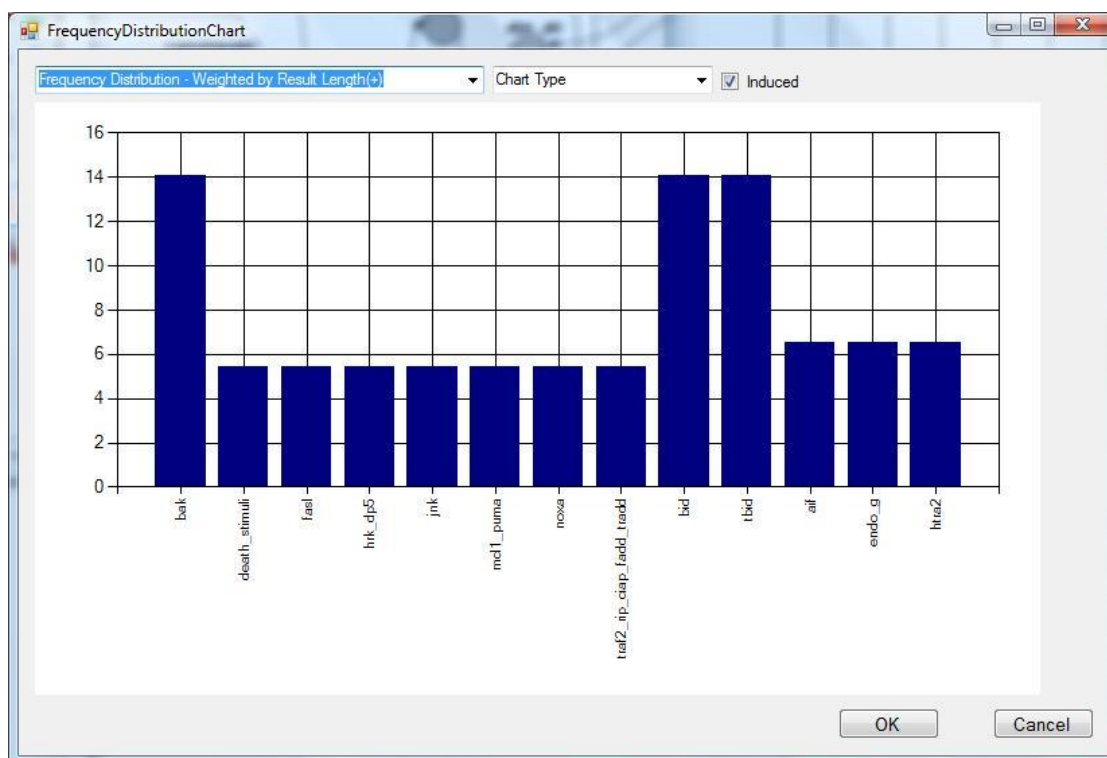
Καθώς τα *in silico* πειράματα που διεξάγονται από το σύστημα είναι πιο οικονομικά σε επίπεδο χρόνου αλλά και κόστους, το σύστημα δίνει τη δυνατότητα για διεξαγωγή πειραμάτων με μικρές διαφορές μεταξύ τους αλλά σημαντικές διαφοροποιήσεις στα αποτελέσματα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αυτού είναι η εκτέλεση του πειράματος που αναγράφεται στον πίνακα 8 με την επιπρόσθετη παρατήρηση της παρατηρούμενης (observed) ενεργής κατάστασης του γονιδίου htra2.

Μια από τις βασικές διαφορές που παρατηρείται στον γράφο αποτελεσμάτων, όπως φαίνεται στην Εικόνα 13, είναι ότι τα γονίδια endo_g και aif, ενώ είχαν ένα ποσοστό παρουσίας στις επεξηγήσεις της τάξης του ~17%, έχουν πέσει στο ~6%. Αντίθετα, τα Bak, tbid και bid έχουν κάνει σημαντική αλλαγή στην συχνότητα παρουσίας τους, ανεβαίνοντας στο ~14%. Αυτή η αλλαγή είναι άξια αναφοράς, καθώς δεν είναι συχνό φαινόμενο, γονίδια που δεν λαμβάνουν μέρος στην παρατήρηση να έχουν συχνότητα

⁴⁸ Η ενεργοποίηση του γονιδίου foxo1 αποτελεί υπόθεση που διατυπώθηκε από την βιολόγο.

⁴⁹ Η πρόσθεση της επιπλέον γνώσης μιας σύνδεσης στην Γνωσιακή Βάση του συστήματος πραγματοποιείται με πρόσθεση ενός λεκτικού Reaction(rct(foxo1,targetGene)).

εμφάνισης μεγαλύτερη από αυτά που λαμβάνουν. Μέσα από τέτοιου είδους πειράματα, ο βιολόγος έχει στην διάθεση του ακόμη ένα άλλο ενισχυτικό στοιχείο για την ενεργοποίηση των γονιδίων αυτών, εάν και εφόσον γνωρίζει την επιπρόσθετη πληροφορία που εισάγαμε στο σύστημα.



Εικόνα 13- Κατανομή Συχνότητας – αντιστρόφως ανάλογη του μήκους της επεξήγησης - Νέα δεδομένα

Σύνοψη:

Η παρούσα διπλωματική διατριβή εστίασε στη μοντελοποίηση του ενδοκυτταρικού περιβάλλοντος, με απώτερο σκοπό τη συμβολή στην εργαστηριακή έρευνα για πραγμάτωση του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Μέσα από την προσομοίωση των σηματοδοτικών μονοπατιών της απόπτωσης πετύχαμε, όχι μόνο τη δόμηση μιας αξιόλογης αναπαράστασης του κυττάρου, αλλά και τη δημιουργία κατάλληλου προσομοιωτικού εργαστηριακού περιβάλλοντος για διεξαγωγή in silico πειραμάτων.

Καθώς η ραγδαία εξέλιξη στο πεδίο των βιολογικών επιστημών επέβαλε τη στροφή της έρευνας από την απομονωτική εξέταση των συστατικών του οργανισμού στην ολιστική θεώρηση των βιολογικών συστημάτων, προτείναμε, στα πλαίσια του παρόντος πονήματος, τη διαμόρφωση ενός μοντέλου αναπαράστασης των ποικίλων επιπέδων λεπτομέρειας του ενδοκυτταρικού περιβάλλοντος. Κατασκευάσαμε, σε επίπεδο πρακτικό, σύστημα που επιτρέπει την συστημική διερεύνηση των κυτταρικών δομών του οργανισμού, δίνοντας με αυτό τον τρόπο τη δυνατότητα στο βιολόγο για ανάλυση του πολυσύνθετου κυτταρικού συστήματος του οποίου η πολυπλοκότητα δεν επιτρέπει την απομνημόνευση ή ακόμη και την αποτύπωση στο χαρτί.

Με την εφαρμογή των μεθόδων του λογικού προγραμματισμού και, πιο συγκεκριμένα, της απαγωγικής λογικής, προτείνεται, εδώ, ολιστική αναπαράσταση των σηματοδοτικών οδών για μεταγωγή του σήματος της απόπτωσης στο ενδοκυττάρικο περιβάλλον. Με αυτά τα εργαλεία μπορεί ο ερευνητής όχι μόνο να αναλύσει τις πολυσύνθετες διεργασίες μετάδοσης του σήματος για πραγματοποίηση του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου, αλλά επιπρόσθετα να διερευνήσει τα

διάφορα σενάρια αποτυχίας της απόπτωσης καθώς και τις πιθανότητες για φαρμακευτική επέμβαση με στόχο τη μεταγωγή του σήματος για απόπτωση.

Οι δυνατότητες για διεξαγωγή *in silico* πειραμάτων, που προσφέρει το σύστημα “ApoCelSys”, καθιστούν το σύστημα πολύτιμο σύμμαχο στην έρευνα για την αναζήτηση θεραπείας των ανώμαλων λειτουργιών που εμποδίζουν τις διαδικασίες της απόπτωσης. Η ιδέα για διεξαγωγή προσομοιωτικών πειραμάτων υπόσχεται εξοικονόμηση όχι μόνο σε επίπεδο κόπου και χρόνου, αλλά ταυτόχρονα σε επίπεδο οικονομικό. Με την εισαγωγή και επεξεργασία των δεδομένων στο σύστημά μας, ο χρήστης μπορεί να εξάγει υποθέσεις που αφορούν συγκεκριμένους προβληματισμούς σχετικά με την αποτυχία της απόπτωσης. Επιπρόσθετα, δύναται να διεξάγει, εξοικονομώντας χρόνο αλλά και κόστος, προσομοιωτικά πειράματα με στόχο την φαρμακευτική θεραπεία των ανωμαλιών που ευθύνονται για την αποτυχία του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου.

Το σύστημα “ApoCelSys”, που σχεδιάστηκε στα πλαίσια της παρούσας εργασίας, δημιουργήθηκε ως συμπλήρωμα συγκεκριμένης πειραματικής δραστηριότητας που διερευνά τη διέγερση της απόπτωσης μέσω συγκεκριμένης φαρμακευτικής ουσίας. Προσφέραμε στο χρήστη ένα αξιόλογο γραφικό περιβάλλον που αποτυπώνει τη σύνδεση των διαφόρων μονοπατιών που συνδέουν τα γονίδια μεταξύ τους, το οποίο ευνοεί, όχι μόνο την εισαγωγή και παρουσίαση των δεδομένων, αλλά και την επεξεργασία αυτών για λογαριασμό της έρευνας. Ο χρήστης του συστήματος “ApoCelSys” πρωτίστως εισάγει τα απαραίτητα δεδομένα και ακολούθως εκτελεί την παραγόμενη επερώτηση, λαμβάνοντας στη συνέχεια τις πιθανές επεξηγήσεις που αφορούν το ζήτημα που διερευνάται.

Η δυνατότητα για εισαγωγή κάθε φορά νέων πληροφοριών, η ταυτόχρονη εξέτασή τους με στόχο την εξαγωγή υποθέσεων – συμπερασμάτων, αλλά και η δυνατότητα για σύγκριση πολλαπλών επερωτήσεων και επεξηγήσεων καθιστούν το σύστημα

“ApoCelSys” χρήσιμο εργαλείο για τη βιολογική φαρμακευτική και πειραματική έρευνα. Η ευκολία στη χρήση, η ευέλικτη προσαρμογή στις ανάγκες του εκάστοτε πειράματος, η μείωση της πολυπλοκότητας που απαιτεί η μελέτη πολυσύνθετων συστημάτων που υπόσχεται το μοντέλο και εφαρμόζει, σε επίπεδο πρακτικό, το σύστημα μας κέντρισαν ήδη το ενδιαφέρον αρκετών βιολόγων.

Μπορεί κανείς να επιχειρηματολογήσει ότι η αναπαράσταση των μονοπατιών που συνδέουν τα συστατικά του ενδοκυτταρικού περιβάλλοντος δεν είναι ιδιαίτερα ελκυστική στον χρήστη, καθώς δεν διακρίνονται με ευκολία όλα τα μονοπάτια μεταγωγής του σήματος. Εντούτοις δεν παραλείπεται καμιά πληροφορία που συνιστά απαραίτητο δεδομένο για τη διεξαγωγή των πειραμάτων – όλα τα σενάρια χαρακτηρίζονται πλήρη ακόμα κι αν η προσομοίωσή τους μοιάζει πολυσύνθετη στο μάτι. Παρά το ότι στόχος μας υπήρξε η εξαγωγή των επεξηγήσεων στον λιγότερο δυνατό χρόνο, είναι γεγονός ότι η εκτέλεση ορισμένων επερωτήσεων απαιτεί περισσότερο χρόνο από ότι οι περισσότερες επερωτήσεις. Ωστόσο, αυτό αποτελεί εξαίρεση, καθώς παρατηρήθηκε σε μοναδικά γονίδια⁵⁰ που χαρακτηρίζονται από την πολύπλοκη διασύνδεση τους σε σύγκριση με τα υπόλοιπα. Παρά τις λιγοστές εξαιρέσεις, είναι αδιαμφισβήτητο ότι το σύστημα “ApoCelSys” εγγυάται στον ερευνητή τη μέγιστη εξοικονόμηση σε χρόνο και χρήμα.

⁵⁰ Κατά την διάρκεια του ελέγχου της εγκυρότητας του συστήματος, μόνο μια περίπτωση τέτοια καταγράφηκε (βλ. caspase6). Αξίζει να σημειωθεί πως η προαναφερθείσα περίπτωση της caspase6 πιθανότατα να μην αποτελεί τη μοναδική εξαίρεση του κανόνα.

ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΕΠΕΚΤΑΣΕΙΣ:

Το μοντέλο που αναπτύξαμε, καθώς και το σύστημα “ApoCelSys” δεν συνιστούν πάγιες, μη μεταβαλλόμενες μορφές μέσα στο χρόνο. Η λογική πάνω στην οποία δομήθηκε τόσο το θεωρητικό πλαίσιο της εργασίας, όσο και το πρακτικό επίπεδο ευνοεί την εξέλιξη τους, ώστε να συμβαδίζουν με την πρόοδο στον τομέα των βιολογικών σπουδών και της Βιοπληροφορικής. Η υπάρχουσα μορφή του συστήματος, αν και χαρακτηρίζεται αποτελεσματική, εντούτοις επιδέχεται βελτιώσεις, καθώς υπάρχουν οι προϋποθέσεις για ανάπτυξη περισσότερων και αποτελεσματικότερων λειτουργιών.

Βασικός στόχος μας για το κοντινό μέλλον αποτελεί η καλύτερη απεικόνιση και διασύνδεση των σηματοδοτικών μονοπατιών, είτε μέσω της βελτίωσης της ποιότητας της γραφικής διεπαφής, είτε μέσα από τη διαίρεση της αναπαράστασης του κυτταρικού περιβάλλοντος σε επίπεδα λεπτομέρειας με στόχο την καθαρότερη αποτύπωση των συνδέσμων μεταξύ των γονιδίων. Η βελτίωση της εικόνας και της αποτύπωσης των συστατικών των κυττάρων θα καταστήσει το σύστημά μας ελκυστικότερο για τον χρήστη, καθώς θα διευκολύνει τη μελέτη των δεδομένων του αλλά και την ανάλυση των αποτελεσμάτων του.

Επιπρόσθετη στόχευση χαρακτηρίσαμε την ιδέα για μια κατηγοριοποίηση των αποτελεσμάτων που απαιτούνται κάθε φορά ως απάντηση στην επερώτηση, αλλά και την εμφάνισή τους στο χρήστη με βάση κάποια συγκεκριμένη (ακόμα και μεταβαλλόμενη) μετρική. Με αυτό τον τρόπο ο χρήστης του συστήματος θα είναι σε θέση να λάβει τις υποθέσεις, όχι άτακτα οργανωμένες, αλλά σε διάταξη με βάση την ανταπόκρισή τους στα κριτήρια που ο ίδιος θα θέτει κάθε φορά. Οργανωμένες πάνω στη λογική μιας συγκεκριμένης μετρικής, οι υποθέσεις που θα αντλούνται ως

επεξήγηση των επερωτήσεων θα ταξινομούνται, θα εξετάζονται με μεγαλύτερη ευκολία, αλλά κυρίως θα ξεχωρίζονται με βάση την εγκυρότητά τους.

Η δυνατότητα για συνδυασμό αποτελεσμάτων που εξάγονται από περισσότερα από ένα πειράματα, με στόχο την παροχή μιας πιο ολοκληρωμένης εικόνας σχετικά με το πρόβλημα το οποίο ερευνάται κάθε φορά, συνιστά άλλη μια λειτουργία, η οποία θα αποτελέσει μελλοντική στόχευση του συστήματός μας. Τέτοιου είδους λειτουργίες, αναμφισβήτητα, θα συμβάλουν σημαντικά στην εξέλιξη όχι μόνο της επιστήμης της βιοπληροφορικής, αλλά και της βιολογίας. Απαραίτητη προοπτική για την εξέλιξη του συστήματος "ApoCelSys" είναι και η εισαγωγή στη βάση δεδομένων του συστήματός μας περισσότερων βιολογικών πληροφοριών και συνισταμένων, ώστε να επεκταθεί το πεδίο της έρευνας το οποίο καλύπτει το αντικείμενο της παρούσας εργασίας, αλλά κυρίως να περιοριστούν στο ελάχιστο οι υποθέσεις που λαμβάνονται ως έγκυρες απαντήσεις των επερωτήσεων.

Μέχρι σήμερα ασχοληθήκαμε με την προσομοίωση του κυτταρικού περιβάλλοντος και τη σύνδεση των μεταγωγικών μονοπατιών των γονιδίων, αλλά και τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Το σύστημα διαθέτει την απαραίτητη βάση για να επεκταθεί στο μέλλον διερευνώντας και άλλες βιολογικές ανωμαλίες που οδηγούν στην αποτυχία της απόπτωσης (όπως για παράδειγμα ο πολλαπλασιασμός του κυττάρου, proliferation), καθώς και ποικίλα άλλα βιολογικά προβλήματα, προσομοιώνοντας πολλές πτυχές του γονιδιακού, ενδογονιδιακού και κυτταρικού συστήματος. Με την εισαγωγή όσο το δυνατόν περισσότερων βιολογικών κανόνων ή περιορισμών θα πετύχουμε, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, και την ακριβέστερη εξαγωγή των υποθέσεων που συνθέτουν κάθε φορά τις επεξηγήσεις.

Βασική στόχευση αποτελεί και η ιδέα για την ανεύρεση, εκ μέρους του συστήματος αυτή τη φορά αντί του βιολόγου, νέων μονοπατιών που συνδέουν τις πρωτεΐνες μεταξύ τους. Καθώς είναι γνωστό ότι η αποκωδικοποίηση του μυστηρίου της ζωής

δεν έχει επιτευχθεί στο μέγιστο δυνατό βαθμό, είναι ασφαλές να υποθέσουμε ότι είναι πολλά τα μελανά σημεία στη βιολογική έρευνα. Η ιδέα για την εξέλιξη του συστήματος “ApoCelSys” από σύστημα που λειτουργεί βάσει δοσμένων και (προ)διατυπωμένων πληροφοριών σε σύστημα που θα σκέφτεται από μόνο του νέες πιθανές λύσεις σχετικά με τις βιολογικές ανωμαλίες συνιστά, δίχως άλλο, καινοτομία που ωθεί στην πρόοδο τα δύο συμπλεκόμενα επιστημονικά πεδία.

Σχετικά με την υπολογιστική επίδοση του συστήματος, ιδιαίτερα καθώς τα γονιδιακά μονοπάτια της Γνωσιακής Βάσης αυξάνονται, σχεδιάζουμε την υλοποίηση και μελέτη μιας επόμενης έκδοσης του συστήματος “ApoCelSys” χρησιμοποιώντας μοντέλο βασισμένο σε σημασιολογία σταθερών μοντέλων (stable models semantics) και αναζήτηση των επεξηγήσεων με χρήση ASP (Answer Set Programming) solvers [14] όπως για παράδειγμα το smodels [15] ή το clingo [16]. Όσον αφορά τη συνεργασία της διεπαφής με το μοντέλο, η μετάβαση από το A-System το οποίο βασίζεται σε SLD-resolution (Selective Linear Definite resolution) είναι σχετικά εύκολη καθώς το σύστημα σχεδιάστηκε διαχωρίζοντας το γραφικό περιβάλλον, που σκοπό έχει να λαμβάνει τα δεδομένα από τον χρήστη και να παρουσιάζει τις επεξηγήσεις, από την υλοποίηση του συστήματος απαγωγικού λογισμού που είναι υπεύθυνο για τον υπολογισμό των επεξηγήσεων. Αναφορικά με την μοντελοποίηση του κυτταρικού περιβάλλοντος, οι αλλαγές που πρέπει να γίνουν είναι αρκετές, ωστόσο, εξαιτίας του ότι οι σταθερές του μοντέλου είναι σχετικά λίγες (το πλήθος των γονιδίων) και το μοντέλο που προτείνουμε δεν χρησιμοποιεί συναρτησιακά σύμβολα (function symbols), η μετατροπή του σε ASP-oriented μοντέλο προβλέπεται εφικτή. Η σύγκριση των δύο αυτών μεθόδων θα δώσει σημαντικές παρατηρήσεις και ενδείξεις σχετικά με την περαιτέρω βελτίωση και ανάπτυξη του συστήματος “ApoCelSys”.

Βασική σκέψη για την εξέλιξη της έρευνας μπορεί να αποτελέσει η δυνατότητα για επέμβαση του ίδιου του χρήστη στο μοντέλο του “ApoCelSys” με σκοπό την μεταβολή των προδιαγραφών του μοντέλου ώστε να αντικατοπτρίζουν με ακρίβεια το

είδος των λειτουργιών που ο ίδιος επιθυμεί να έχει το σύστημα. Με τις κατάλληλες αλλαγές στο επίπεδο της μορφής του μοντέλου θα απλοποιηθεί η διαδικασία εισαγωγής νέων κατηγορημάτων. Έτσι, με απλές οδηγίες χρήσης από το γραφικό περιβάλλον, θα μπορεί ο ερευνητής να προσαρμόσει το σύστημα στις ανάγκες της δικής του έρευνας με την τροποποίηση των κατηγορημάτων του μοντέλου.

Πολλά από τα παραπάνω στοιχεία που εξετάζονται, εδώ, αποτελούν μακρινούς στόχους για το μέλλον, ενώ άλλα βρίσκονται ήδη πολύ κοντά στην υλοποίηση. Το σίγουρο είναι ότι το σύστημα “ApoCelSys” συνιστά, με τη σημερινή του μορφή, χρήσιμο εργαλείο για την εξέλιξη της σύγχρονης πειραματικής και φαρμακευτικής έρευνας. Η ευκολία προσαρμογής στα δεδομένα του εκάστοτε βιολογικού πειράματος, η ταχύτητα στην διεξαγωγή των *in silico* πειραμάτων, η ευκολία στη χρήση είναι μερικές μονάχα από τις πτυχές που ορίζουν την χρησιμότητα του συστήματός μας. Ωστόσο, καθώς η ιδέα της παρούσης εργασίας δομήθηκε πάνω στη λογική μιας συνεχούς εξέλιξης, αναθεώρησης και βελτίωσης, είμαστε αισιόδοξοι πως το σύστημα “ApoCelSys” θα αποφύγει τον κίνδυνο να καταστεί παρωχημένο, αφού δεν θα πάψει ποτέ να επεκτείνεται, να βελτιώνεται και να συμπορεύεται με την ταυτόχρονη πρόοδο στο πεδίο των βιολογικών σπουδών.

Βιβλιογραφία:

- [1] Antonis C. Kakas, Bert Van Nuffelen, Marc Denecker : A-System: Problem Solving through Abduction. IJCAI 2001, 591-596
- [2] Elmore, S, Apoptosis: a review of programmed cell death. Toxicologic Pathology 35, 2007
- [3] Grivell, L. Συστημική βιολογία στην σχολική τάξη; μετάφραση Davidova, E. και Στασινάκης, Π. , Science in school, issue 11 (2010), Ανακλήθηκε Απρίλιο, 20, 2012, απόscienceinschool.org:
<http://www.scienceinschool.org/2009/issue11/systemsbiology/greek>
- Βλέπε επιπρόσθετα: Grivell, L. Systems biology in the classroom? Science in school, Issue 11 (Spring 2009), Ανακλήθηκε Απρίλιο, 20, 2012, από scienceinschool.org:
<http://www.scienceinschool.org/2009/issue11/systemsbiology>
- [4] Heath, A. P. and Kavradi L. E. Computational challenges in systems biology, *Computer Science Review*, Vol.3 (2009), 1-17.
- [5] Kakas, A. και Denecker, M., "Abductive Logic Programming", Special issue of Journal of Logic Programming, JLP, Vol. 44(1-3), Elsevier Science, 2000
- [6] Kakas, A., Kowalski, R. A. και Toni, F., "Abductive Logic Programming", Journal of Logic and Computation, 2 no 6, 719-770, (1993).
- [7] Phенning, F. Logic Programming: Notes for a course given at Carnegie Mellon University, Fall 2006, Ανακλήθηκε Μάιος, 1, 2012, από Carnegie Mellon University:
<http://www.cs.cmu.edu/~fp/courses/lp/lectures/lp-all.pdf>
- [8] Trewavas, A. A Brief History of Systems Biology, *The Plant Cell*, Vol.18 (October 2006), 2420-2430.
- [9] Ασημακόπουλος, Ν. Α., Θεοχαρόπουλος, Ι. Χ. και Δημητρίου, Ν. Κ. Εφαρμογή στην συστημικής σκέψης και της συστημικής δυναμικής στην ανάλυση διαδικασιών μάθησης. στο Πρακτικά Εθνικού Συνεδρίου Εταιρείας Συστημικών Μελετών (Τρίπολη, 2005). Ανακλήθηκε Απρίλιο, 20, 2012, από pe04.net:
<http://www.pe04.net/lib/exe/fetch.php?media=bio:papers:pap12.pdf>
- [10] Εργαστήριο Γλωσσών Προγραμματισμού και Τεχνολογίας Λογισμικού, Εισαγωγή στον Λογικό Προγραμματισμό: Σημειώσεις μαθήματος, Ανακλήθηκε Μάιος, 1, 2012, από Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης:
http://lpis.csd.auth.gr/prolog/Logic_Programming/node3.html#SECTION00021000000000000000
- [11] Ματσάγγος, Σ. Η βιοπληροφορική του χθες και του σήμερα – προκλήσεις και προοπτικές, Ελληνική Εταιρεία Κλινικής Χημείας – Κλινικής Βιοχημείας (ΕΕΚΧ – ΚΒ)

Newsletter (Ιανουάριος 2011), Ανακλήθηκε Απρίλιο, 20, 2012, από eekx-kb.gr:
http://www.eekx-kb.gr/DELTIIO/01_2011/NSLTR_VOL1.pdf

[12] Μυτιληναίος, Μ. Λογική, Ανακλήθηκε Μάιος, 1, 2012, από Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών : <http://users.uoa.gr/~pkrikel/Logic.pdf>

[13] Τριανταφυλλίδης, Κ. και Κουβάτζη, Α. Γενετική Ανθρώπου, Εκδοτικός Οίκος Α. Κυριακίδη α. ε. , Θεσσαλονίκη, 2006.

[14] Satoh, K. Iwayama, N., Computing Abduction by Using the TMS, ICLP 1991: 505-518

[15] SMOBELS, Ανακλήθηκε Μάιο, 20, 2012 : <http://www.tcs.hut.fi/Software/smodels/>

[16] Clingo, Ανακλήθηκε Μάιο, 20, 2012 : <http://potassco.sourceforge.net/>

[17] C. Constantinou, C.M. Neophytou, P. Vraha, J. A. Hyatt, K. A. Papas, and A. I. Constantinou, Induction of DNA damage and caspase-independent programmed cell death by vitamin E, Nutrition and Cancer, 64, Number 1, 136-152, 2012

[18] Igney F.H., Krammer P.H., Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis, Nat. Rev. Cancer 2, 277–88, 2002

Παράρτημα Α: Πλήρες Απαγωγικό Λογικό Μοντέλο

```
% Theory T
active( Phase, GeneX ) :-
    \+absent(GeneX),
    normally_active(Phase, GeneX),
    normal_active(Phase, GeneX).

active( Phase, GeneX ) :-
    mutated_induced( Phase, GeneX).

active( Phase, GeneX ) :-
    \+absent(GeneX),
    externally_induced(Phase, GeneX).

normally_active(Phase, GeneX) :-
    \+absent(GeneX),
    reaction(rct(GeneY, GeneX)),
    active(Phase, GeneY).

inhibited(Phase, GeneX) :-
    \+absent(GeneX),
    normally_inhibited(Phase, GeneX).

inhibited(Phase, GeneX) :-
    \+absent(GeneX),
    externally_inhibited(Phase, GeneX).

inhibited(Phase, GeneX) :-
    \+absent(GeneX),
    mutated_inhibited(Phase, GeneX).

normally_inhibited(Phase, GeneX) :-
    \+absent(GeneX),
    inhibitor(GeneX, GeneZ),
    active(Phase, GeneZ).

inactive(Phase, GeneX) :- inhibited(Phase, GeneX).

inactive(Phase, GeneX) :-
    \+active(Phase, GeneX), reaction(rct(GeneY, GeneX)), inactive(Phase, GeneY).

inactive(Phase, GeneX) :-
    \+active(Phase, GeneX), inhibitor(rct(_ Gene, GeneX), GeneY),
    active(Phase, GeneY).

externally_induced( Phase, GeneX ) :-
    drug_active(Phase, GeneX).

externally_induced( Phase, GeneX ) :-
    \+absent(GeneX),
    oncogene_activated( Phase, GeneX).
```

```

externally_induced( Phase, GeneX ) :-
    abnormally_active(Phase, GeneX).

externally_inhibited(Phase, GeneX) :-
    exists(Phase, Drug),
    possible_drug_effect(Drug, inhibit, GeneX),
    drug_inhibited(Phase, Drug, GeneX).

externally_inhibited(Phase, GeneX) :-
    \+absent(GeneX),
    tumor_suppressor(GeneX),
    abnormally_inhibited(Phase, tumor_suppressor, GeneX).

externally_inhibited(Phase, GeneX) :-
    \+tumor_suppressor(GeneX),
    abnormally_inhibited(Phase, null, GeneX).

drug_active(Phase, GeneX) :-
    exists(Phase, Drug),
    possible_drug_effect(Drug, induce, GeneX),
    drug_induced(Phase, Drug, GeneX).

oncogene_activated( Phase, GeneX ) :-
    oncogene(GeneX),
    abnormally_induced(Phase, oncogene, GeneX).

abnormally_active(Phase, GeneX) :-
    \+oncogene(GeneX),
    abnormally_induced(Phase, null, GeneX).

mutated_induced( Phase, GeneX ) :-
    \+absent(GeneX),
    mutated_activated( Phase, GeneX).

mutated_activated( Phase, GeneX ) :-
    possible_mutation(GeneX),
    abnormally_induced(Phase, mutation, GeneX).

mutated_inhibited(Phase, GeneX) :-
    \+absent(GeneX),
    possible_mutation(GeneX),
    abnormally_inhibited(Phase, mutation, GeneX).

% Integrity Constraints - ICs
ic :- normal_active(Phase, GeneX), inhibited(Phase, GeneX).
ic :- drug_induced(Phase, drug, Gene), drug_inhibited(Phase, drug, Gene).
ic :- drug_induced(Phase, drug, apoptosis).

% Abducibles - H
abducible(abnormally_induced(_Phase, _Reason, _GeneX)).
abducible(abnormally_inhibited(_Phase, _Reason, _GeneX)).
abducible(drug_induced(_Phase, _Drug, _GeneX)).
abducible(drug_inhibited(_Phase, _Drug, _GeneX)).
abducible(normal_active(_Phase, _GeneX)).

```

Παράρτημα Β: Γνωσιακή Βάση που καταγράφει τα μονοπάτια που αφορούν την απόπτωση και την παρούσα εργασία.

```
%rct( a, b ) :: a -> b
%inhib( a, b ) :: b -| a

reaction(rct(tNF_FasL_Trail,rIP1_TRAF2_CIAF_TRADD_FADD)).
reaction(rct(rIP1_TRAF2_CIAF_TRADD_FADD,nIK)).
reaction(rct(nIK,ikBA_nFKB)).
reaction(rct(ikBA_nFKB,nFKB)).
reaction(rct(nFKB,apoptosis)).
reaction(rct(rIP1_TRAF2_CIAF_TRADD_FADD,tAK1)).
reaction(rct(tAK1,iKka_IKkb_iKkc)).
reaction(rct(iKka_IKkb_iKkc,ikBA_nFKB)).
reaction(rct(traf2_rip_casp8_fadd_tradd,caspase3)).
reaction(rct(traf2_rip_casp8_fadd_tradd,caspase6)).
reaction(rct(traf2_rip_casp8_fadd_tradd,caspase7)).
reaction(rct(traf2_rip_casp10_fadd_tradd,caspase3)).
reaction(rct(traf2_rip_casp10_fadd_tradd,caspase6)).
reaction(rct(traf2_rip_casp10_fadd_tradd,caspase7)).
reaction(rct(erstress,ca2)).
reaction(rct(ca2,calpain)).
reaction(rct(calpain,caspase12)).
reaction(rct(caspase12,caspase9)).
reaction(rct(caspase9,caspase3)).
reaction(rct(caspase9,caspase6)).
reaction(rct(caspase9,caspase7)).
reaction(rct(apaf1_Caspase9,caspase3)).
reaction(rct(apaf1_Caspase9,caspase6)).
reaction(rct(apaf1_Caspase9,caspase7)).
reaction(rct(caspase7,caspase3)).
reaction(rct(caspase7,caspase6)).
reaction(rct(caspase3,rock)).
reaction(rct(caspase6,rock)).
reaction(rct(caspase7,rock)).
reaction(rct(rock,apoptosis)).
reaction(rct(caspase3,icad_cad)).
reaction(rct(caspase6,icad_cad)).
reaction(rct(caspase7,icad_cad)).
reaction(rct(icad_cad,cad)).
reaction(rct(cad,apoptosis)).
reaction(rct(fasl,traf2_rip_ciap_fadd_tradd)).
reaction(rct(traf2_rip_ciap_fadd_tradd,jnk)).
reaction(rct(jnk,p53)).
reaction(rct(jnk,cjun)).
reaction(rct(cjun,bim)).
reaction(rct(cellcycle,cdc2)).
reaction(rct(cdc2,bad)).
reaction(rct(foxo1,p53)).
reaction(rct(survival_factors,pl3k)).
```

reaction(rct(pl3k,akt)).
reaction(rct(akt,s1433)).
reaction(rct(pl3k,p70_s6k)).
reaction(rct(survival_factors,erk1_2)).
reaction(rct(erk1_2,p90rsk)).
reaction(rct(survival_factors,pkc)).
reaction(rct(pkc,p90rsk)).
reaction(rct(survival_factors,pka)).
reaction(rct(cancineurin,bad)).
reaction(rct(fasl,fas_cd95)).
reaction(rct(fas_cd95,traf2_rip_casp8_fadd_tradd)).
reaction(rct(fas_cd95,traf2_rip_casp10_fadd_tradd)).
reaction(rct(traf2_rip_casp10_fadd_tradd,bid)).
reaction(rct(bid,tbid)).
reaction(rct(tbid,bax)).
reaction(rct(bax,cytoc)).
reaction(rct(bax,arts)).
reaction(rct(bax,htra2)).
reaction(rct(bax,smacdiablo)).
reaction(rct(bax,aif)).
reaction(rct(bax,endo_g)).
reaction(rct(tbid,bak)).
reaction(rct(bak,cytoc)).
reaction(rct(bak,arts)).
reaction(rct(bak,htra2)).
reaction(rct(bak,smacdiablo)).
reaction(rct(bak,aif)).
reaction(rct(bak,endo_g)).
reaction(rct(bim_lc8,bim)).
reaction(rct(lc8_bmt,bcl2_bmt)).
reaction(rct(death_stimuli,jnk)).
reaction(rct(jnk,hrk_dp5)).
reaction(rct(jnk,bax)).
reaction(rct(dnamage,caspase2_raiid_pidd)).
reaction(rct(dnamage,ing2)).
reaction(rct(dnamage,atm_atr)).
reaction(rct(caspase2_raiid_pidd,bax)).
reaction(rct(ing2,p53)).
reaction(rct(p53,caspase2_raiid_pidd)).
reaction(rct(p53,bax)).
reaction(rct(p53,noxa)).
reaction(rct(p53,mcl1_puma)).
reaction(rct(nad,sirt2)).
reaction(rct(endo_g,apoptosis)).
reaction(rct(aif,apoptosis)).
reaction(rct(cytoc,apaf1_Caspase9)).
reaction(rct(hsp60,caspase3)).
reaction(rct(hsp60,caspase6)).
reaction(rct(hsp60,caspase7)).
reaction(rct(caspase3,apoptosis)).
reaction(rct(caspase6,apoptosis)).

reaction(rct(caspase7,apoptosis)).

inhibitor(flip,itch).

inhibitor(traf2_rip_casp8_fadd_tradd,flip).

inhibitor(traf2_rip_casp10_fadd_tradd,flip).

inhibitor(bid,traf2_rip_casp8_fadd_tradd).

inhibitor(bid,traf2_rip_casp10_fadd_tradd).

inhibitor(p53, sir2).

inhibitor(foxo1, s1433).

inhibitor(s1433, jnk).

inhibitor(bad, p70_s6k).

inhibitor(bad, p90rsk).

inhibitor(bad, s1433).

inhibitor(bad, pka).

inhibitor(bcl_xl, bad).

inhibitor(apaf1_Caspase9, bcl_xl).

inhibitor(cytoc,bcl_xl).

inhibitor(arts,bcl_xl).

inhibitor(htra2,bcl_xl).

inhibitor(smacdiablo,bcl_xl).

inhibitor(aif,bcl_xl).

inhibitor(endo_g,bcl_xl).

inhibitor(bcl_xl,tbid).

inhibitor(mcl_1,mule).

inhibitor(bim,mcl_1).

inhibitor(bcl2_bmt,bim).

inhibitor(cytoc,bcl2_bmt).

inhibitor(arts,bcl2_bmt).

inhibitor(htra2,bcl2_bmt).

inhibitor(smacdiablo,bcl2_bmt).

inhibitor(aif,bcl2_bmt).

inhibitor(endo_g,bcl2_bmt).

inhibitor(caspase2_raiid_pidd,camkII).

inhibitor(bcl2,hrk_dp5).

inhibitor(cytoc,bcl2).

inhibitor(arts,bcl2).

inhibitor(htra2,bcl2).

inhibitor(smacdiablo,bcl2).

inhibitor(aif,bcl2).

inhibitor(endo_g,bcl2).

inhibitor(bax,bcl2).

inhibitor(bcl2,noxa).

inhibitor(bcl2,mcl1_puma).

inhibitor(mcl1_puma,mule).

inhibitor(p53,mule).

inhibitor(p53,sirt2).

inhibitor(xiap,smacdiablo).

inhibitor(caspase7,xiap).

inhibitor(caspase3,xiap).

inhibitor(caspase6,xiap).

inhibitor(xiap,htra2).

inhibitor(xiap,arts).

oncogene(pl3k).

oncogene(akt).

oncogene(tNF_FasL_Trail).

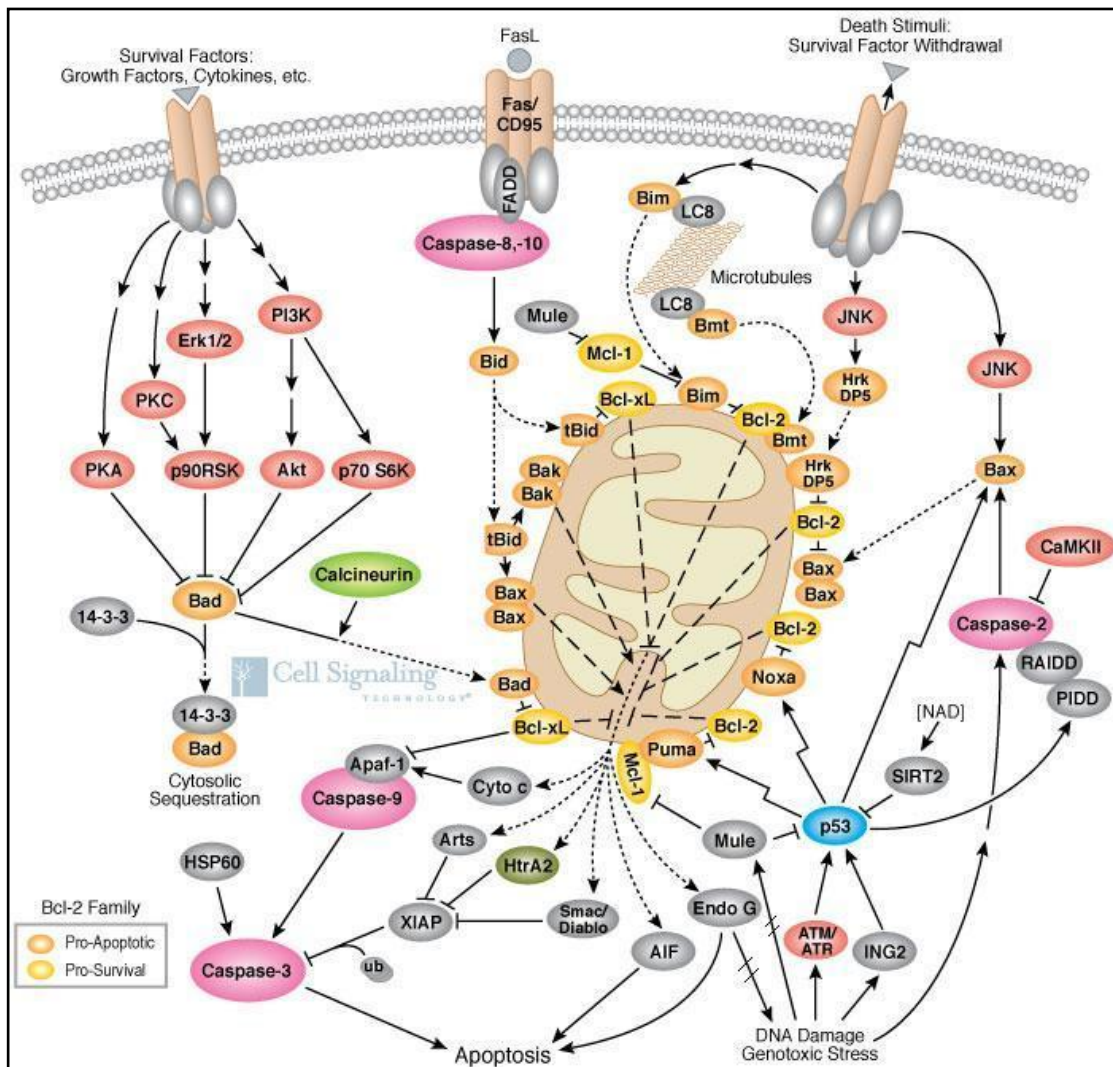
tumor_suppressor(bax).

tumor_suppressor(p53).

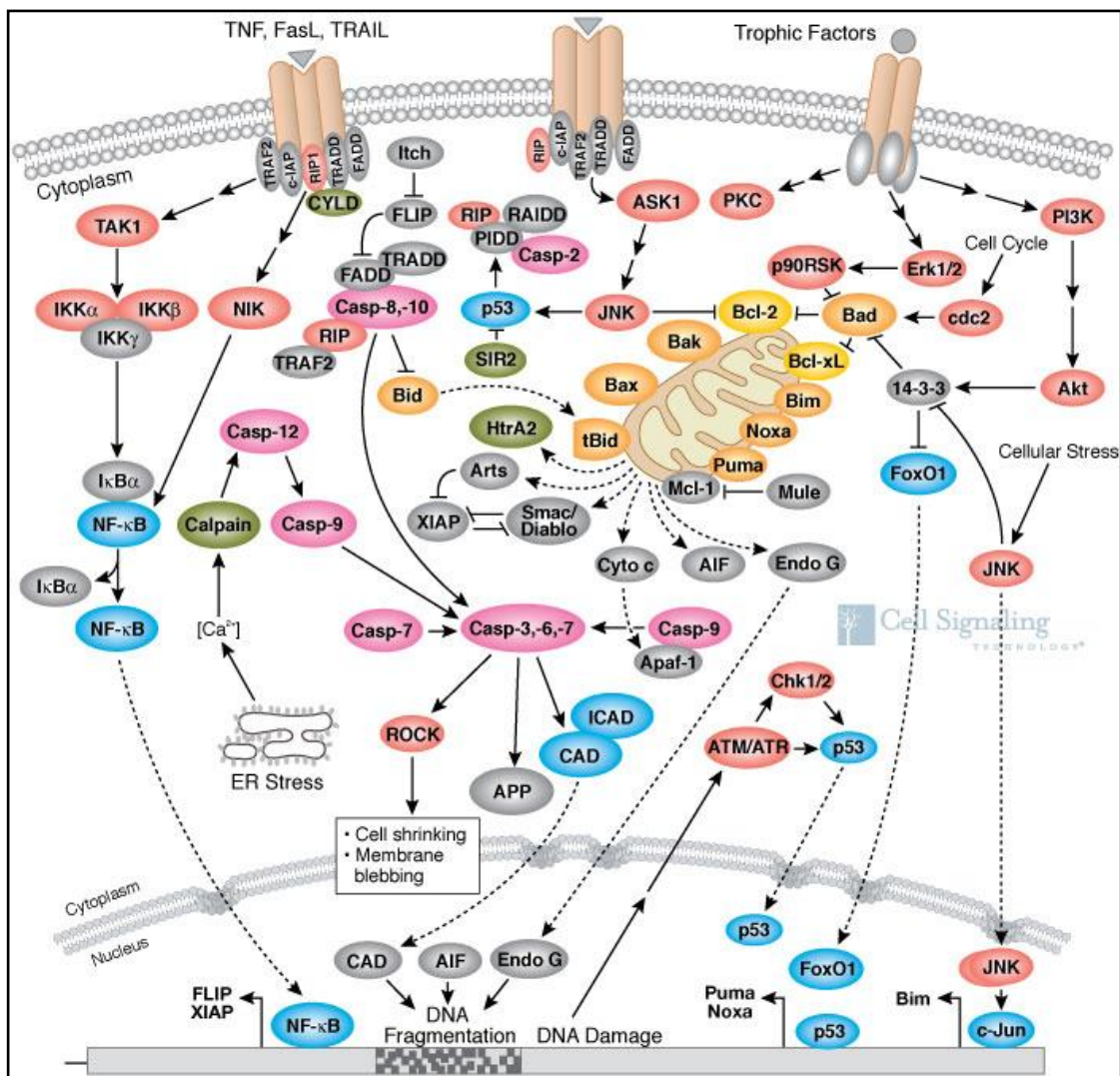
tumor_suppressor(bcl2).

tumor_suppressor(atm_atr).

Παράρτημα Γ: Εικόνες γραφικής αναπαράστασης ενδοκυτταρικών μονοπατιών και μεταγωγής σήματος για απόπτωση.



Εικόνα 14 - Μιτοχονδριακός έλεγχος απόπτωσης (η εικόνα αντλείται από τον ιστότοπο http://www.cellsignal.com/reference/pathway/Apoptosis_Mitochondrial.html, 16/5/2012).



Εικόνα 15 - Αποπτωτικά μονοπάτια (η εικόνα αντλείται από τον ιστότοπο http://www.cellsignal.com/reference/pathway/Apoptosis_Overview.html, 16/5/2012).

Παράρτημα Δ: Πίνακες ενδεικτικών εκτελέσεων

Πίνακας 9 – Πειραματικά δεδομένα mcf-7

absent	inactive	active
p53	bcl2	aif
bax	xiap	endo_g
bcl_xl		
cytoc		
caspase 3,6,7,9		
calpain		

Πίνακας 10 - Πειραματικά δεδομένα MDA-MB-231

absent	inactive	active
p53	bax	bcl2
calpain	bcl_xl	aif
erstress	cytoc	endo_g
		xiap

Πίνακας 11 - Ενδεικτικοί χρόνοι εκτελέσεων πειράματος mcf-7 με διάφορες τροποποιήσεις

A/A	absent	inactive	active	Χρόνος εκτέλεσης	Επεξηγήσεις
1				0:17	56
2			+htra2	1:02	32
3	-p53			0:51	84
4	-p53		+htra2	3:12	48
5	-casp7			0:17	56
6	-casp6			0:17	56
7	-p53	-xiap	+xiap	0:02	48
8	-p53	-xiap		0:02	48
9		-xiap		0:00	32
10	-p53	-xiap	+htra2	0:09	48
11		-bcl2		0:02	7

Πίνακας 12 - Ενδεικτικοί χρόνοι εκτελέσεων πειράματος MDA-MB-231 με διάφορες τροποποιήσεις

A/A	absent	inactive	active	computation time	explanations
1				3:11	7
2		-bax		0:05	7

Πίνακας 13 - Ενδεικτικοί χρόνοι εκτελέσεων με χρήση depth search limit στο mcf-7

A/A	Depth search	Χρόνος εκτέλεσης	Επεξηγήσεις
1	NA	3:36	48
2	1000	3:36	48
3	600	3:22	48
4	500	2:18	61
5	400	1:09	115
6	300	0:22	149
7	200	0:04	78
8	100	0:00	6

Πίνακας 14 - Ενδεικτικοί χρόνοι εκτελέσεων με χρήση depth search limit στο MDA-MB-231

A/A	Depth search	Χρόνος εκτέλεσης	Επεξηγήσεις
1	NA	3:11	7
2	1000	1:08	7
3	600	0:16	7
4	500	0:10	7
5	400	0:04	7
6	300	0:01	4
7	100	0:00	4